

SÉRIE A, N° 1908

N° D'ORDRE :

2775

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Henri BERRIER

ASSISTANT A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ALGER

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SUBSTANCES DU TYPE AUXINI-
QUE DANS LE RÈGNE ANIMAL.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

6 MAI 1940

1940 devant la Commission d'examen

Président	MM. CAULLERY.
Examineurs.	{ ROBERT-LÉVY.
	GRASSÉ.

PARIS

Editions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1940



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552808_0035

SÉRIE A, N° 1908

N° D'ORDRE :

2775

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Henri BERRIER

ASSISTANT A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ALGER

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SUBSTANCES DU TYPE AUXINI-
QUE DANS LE RÈGNE ANIMAL.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1940 devant la Commission d'examen

<i>Président</i>	MM. GAULLERY.
<i>Examineurs:</i> }	ROBERT-LÉVY.
	GRASSE.

PARIS

Éditions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1940

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.
Doyen..... C. MAURAIN, Professeur, Physique du Globe.

Professeurs honoraires.	H. LEBESGUE.	LESPIEAU.	ABRAHAM.
	Émile PICARD.	MARCHIS.	Ch. FABRY.
	Léon BRILLOUIN.	VESSIOT.	Léon BERTRAND
	GUILLET.	PORTIER.	WINTREBERT.
	PÉCHARD.	MOLLIARD.	DUBOSQ.
	FREUNDLER.	LAPICQUE.	BOHN.
	AUGER.	G. BERTRAND.	RABAUD.
	DANGEARD.		

PROFESSEURS

M. CAULLERY.....	† Zoologie (Évolution des êtres organisés).	FOCH.....	† Mécanique expérimentale des fluides.
Émile BOREL.....	† Calcul des probabilités et Physique mathématique.	PAUTHENIER.....	Physique (P. C. B.).
Jean PERRIN.....	† Chimie physique.	De BROGLIE.....	† Théories physiques.
E. CARTAN.....	† Géométrie supérieure.	CHRÉTIEN.....	Optique appliquée.
A. COTTON.....	† Recherches physiques.	P. JOB.....	Chimie générale.
J. DRACH.....	† Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
Charles PÉREZ. . .	† Zoologie.	PRENANT.....	† Anatomie et Histologie comparées.
M. GUICHARD.....	† Analyse et mesures chimiques.	VILLEY.....	Mécanique physique et expérimentale.
Paul MONTEL.....	† Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	COMBES.....	† Physiologie végétale.
L. BLARINGHEM. .	† Botanique.	GARNIER.....	† Mathématiques générales.
G. JULIA.....	† Mécanique analytique et Mécanique céleste.	PÈRES.....	Mécan. théor. des fluides.
C. MAUGUIN.....	† Minéralogie.	HACKSPILL.....	† Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY. †	Pétrographie.	LAUGIER.....	† Physiologie générale.
A. DENJOY.....	† Application de l'analyse à la Géométrie.	TOUSSAINT.....	Technique Aéronautique.
L. LUTAUD.....	† Géographie physique et géologie dynamique.	M. CURIE.....	Physique (P. C. B.).
Eugène BLOCH....	† Physique.	G. RIBAUD.....	† Hautes températures.
G. BRUHAT.....	† Physique théorique et physique céleste.	CHAZY.....	† Mécanique rationnelle.
E. DARMOIS.....	† Enseignement de Physique.	GAULT.....	Chimie (P. C. B.).
A. DEBIERNE.....	† Physique Générale et Radioactivité.	CROZE.....	Recherches physiques.
A. DUFOUR.....	† Physique. (P. C. B.).	DUPONT.....	† Théories chimiques.
L. DUNOYER.....	Optique appliquée.	LANQUINE.....	† Géologie structurale et géologie appliquée.
A. GUILLIERMOND. †	Botanique.	VALIRON.....	Mathématiques générales.
M. JAVILLIER.....	† Chimie biologique.	BARRABÉ.....	Géologie structurale et géologie appliquée.
ROBERT-LÉVY.....	† Physiologie comparée.	MILLOT.....	Biologie animale (P.C.B.)
Henri VILLAT....	† Mécanique des fluides et applications.	F. PERRIN.....	Théories physiques.
Ch. JACOB.....	† Géologie.	VAVON.....	Chimie organique.
P. PASCAL.....	† Chimie générale.	G. DARMOIS.....	Calcul des Probabilités et Physique-Mathématique
M. FRÉCHET.....	† Calcul différentiel et Calcul integral.	CHATTON.....	† Biologie maritime.
E. ESCLANGON....	† Astronomie.	AUBEL.....	Chimie biologique.
M ^{me} RAMART-LUCAS †	Chimie organique.	Jacques BOURCART.	Géographie physique et géologie dynamique.
H. BEGHIN.....	† Mécanique physique et expérimentale.	M ^{me} JOLIOT-CURIE.	Physique générale et Radioactivité.
		PLANTEFOL.....	Biologie végétale (P.C.B.)
		CABANNES.....	Enseignement de Physique.
		GRASSÉ.....	Biologie animale (P. C. B.).
		PRÉVOST.....	Chimie (P. C. B.).
		BOULIGAND.....	Mathématiques.
		G. CHAUDRON....	Chimie (P. C. B.).

Secrétaire..... A. PACAUD.
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.



Henri BERRIER

Assistant à la Faculté des Sciences d'Alger.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SUBSTANCES DU TYPE AUXINIQUE DANS LE RÈGNE ANIMAL

AVANT-PROPOS

C'est au laboratoire du Professeur H. CARDOT, de la Faculté des Sciences de Lyon, que j'ai entrepris mes premières recherches de physiologie. Je garde à ce Maître une vive gratitude que je suis heureux de lui exprimer ici. A son souvenir s'associe pour moi celui du Docteur A. JULLIEN, aujourd'hui Professeur à la Faculté des Sciences de Besançon, auprès de qui j'ai préparé dans ce laboratoire mon Diplôme d'Etudes Supérieures et dont l'aide m'a été si précieuse.

La bienveillance du Professeur CARDOT ne devait pas me faire défaut quand je quittai la France : il fit transférer à Alger la Bourse de Doctorat qu'il m'avait fait accorder à Lyon et il eut l'heureuse pensée de m'adresser au Professeur M. ROSE pour la préparation d'une thèse.

Dès cette année 1933, le Professeur ROSE me montra tout l'intérêt que pouvait avoir la recherche des substances de fonction auxinique dans le règne animal. Aussitôt les premiers résultats obtenus, il fixa le cadre de mon travail et pendant les six ans qui ont suivi il s'est intéressé sans cesse à mes efforts, aiguillant mes recherches, en contrôlant les résultats, me soutenant de ses conseils et, dans les moments difficiles, me donnant confiance et courage. Il me plaît de reconnaître que c'est à lui surtout que je dois d'avoir persévéré. Qu'il veuille bien recevoir ici l'expression respectueuse de ma profonde gratitude.

Henri Berrier.

C'est encore pour moi un agréable devoir que d'offrir mes vifs remerciements, ainsi que l'assurance de mon dévouement sincère, à M. le Professeur L. G. SEURAT, qui m'a accueilli cordialement dans son laboratoire maritime de la Jetée Nord et a eu la rare délicatesse, après qu'il m'eut choisi comme son assistant, de me laisser poursuivre des recherches qui ne concernaient pas directement sa spécialité.

Que M. le Doyen ROUYER veuille bien accepter aussi l'hommage de ma reconnaissance pour l'appui qu'il a su m'accorder en toute occasion ; ainsi que M. le Professeur ROYER, qui a si aimablement facilité pour moi la compréhension de points très délicats dans diverses publications en langue allemande.

Je remercie vivement M. H. GAUTHIER, Maître de Conférences de Zoologie générale, qui a généreusement mis à ma disposition une partie de ses crédits personnels pour l'achat de livres et de revues n'ayant trait qu'à mon propre travail ; le Docteur R. DIEUZEIDE, Chef de Travaux, qui lors de mon arrivée à Alger s'employa activement à mon installation au laboratoire et m'aida par la suite en diverses circonstances ; M. BRELOT, actuellement Professeur de Mathématiques à la Faculté de Bordeaux, et M. KOELBERT, Bibliothécaire en Chef de l'Université d'Alger, qui m'ont souvent accordé leur collaboration amicale dans les traductions que j'ai dû faire de nombreux ouvrages allemands.

Je prie enfin M. le Professeur M. CAULLERY d'agréer l'expression de ma vive gratitude pour avoir bien voulu me faire le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse. J'exprime mes sentiments reconnaissants à MM. les Professeurs R. LÉVY et P. GRASSÉ qui ont accepté eux aussi d'examiner mon travail et de faire partie du Jury, à M. le Professeur E. RABAUD qui est intervenu dans la publication de ce mémoire.

Je remercie également M. DEF LANDRE, Maître de Recherches de la Caisse Nationale de la Recherche scientifique, pour l'aide qu'il m'a donnée dans la préparation des clichés.

Que tous ceux qui se sont intéressés à mes efforts, et dont le nom ne peut entrer dans les limites réduites de cet avant-propos, ne m'en veuillent pas, car je ne les ai pas oubliés.

INTRODUCTION

L'organisme très complexe d'un animal pluricellulaire placé dans le milieu extérieur réagit comme un ensemble d'éléments coordonnés, comme un tout harmonieux.

Cette harmonie qui conditionne la vie est réalisée grâce aux corrélations fonctionnelles. Celles-ci sont de trois types : nerveuses, chimiques et neuro-chimiques.

Les régulations humorales ou chimiques s'exercent, on le sait, par l'intermédiaire de substances dissoutes sécrétées par certaines cellules dans les liquides organiques. Et ces substances, qui ont reçu le nom d'hormones (STARLING), agissent sur le fonctionnement d'autres cellules baignées par les mêmes liquides. Ainsi une hormone est, pour employer les propres termes de STARLING, un « messageur chimique », un « régulateur chimique », un « excitant fonctionnel spécifique ».

Ce procédé de régulation, où n'intervient nullement le système nerveux, s'est imposé dès le xx^e siècle à l'attention des biologistes à la suite des découvertes de STARLING et de BAYLISS (1904) qui ont ainsi jeté les premières bases des doctrines hormonales.

Mais, chez les plantes, morphologiquement et physiologiquement plus simples que les animaux, existe-t-il des phénomènes comparables ?

Les travaux déjà anciens de JULIUS SACHS (1880-1882) ont montré que certaines corrélations s'établissent chez les plantes par circulation de substances non définies (substances formatrices des racines, substances fabriquées au moment de la floraison). Les recherches d'HABERLANDT sur les hormones de division cellulaire et de blessure ⁽¹⁾ aboutissent aux mêmes conclusions. Ces notions

⁽¹⁾ Récemment, J. ENGLISH et J. BONNER (1937) ont obtenu à l'état pur et cristallisé un produit qu'ils ont appelé « traumatine ». Cette hormone de blessure serait active sur le test fève d'où elle a été extraite et son activité est déterminée par la quantité de tissu néoformé. C'est une substance amorphe, brun jaunâtre, hygroscopique, soluble dans l'eau, l'alcool éthylique et l'acétone, stable vis-à-vis des acides et des alcalis dilués. Elle est inactivée par H_2O_2 . Son P. M. (méthode de diffusion) est voisin de 225.

conduisent à supposer l'existence, dans l'organisme végétal, de corrélations d'ordre chimique s'établissant par l'intermédiaire de matières solubles migratrices.

De plus, les dernières acquisitions de la biologie moderne ont mis en évidence toute une série de corps qui semblent jouer un rôle primordial dans la croissance des végétaux supérieurs. Ces produits actifs comprennent ⁽¹⁾ : 1° le groupe *auxine* où l'on range les auxines *a* et *b* isolées par KÖGL, l'acide β -indolylacétique (hétéro-auxine), et divers éléments qui sont aptes eux aussi à favoriser l'élongation cellulaire.

2° le groupe *Bios* réunissant des substances telles que l'aneurine, la biotine, l'œstrone, etc., à divers aliments spécifiques : méso-inosite, β -alanine, leucine, acide pyruvique, acide gluconique, etc. Ce complexe de facteurs, où l'on place les substances dites auxhormones, mithormones, méristines, agit sur la production de matière sèche.

Parmi ces éléments, les auxines — « substances de croissance » de SÖDING, ou « Phytohormones » de WENT — sont des substances solubles qui deviennent actives dans le méristème terminal de la plante d'où elles diffusent en provoquant des effets variés. Mais leur attribut essentiel est d'augmenter l'extension de la paroi cellulaire et sa perméabilité qui sont les éléments fondamentaux de la croissance. En outre, leur répartition, modifiée dans l'organisme végétal par les agents physico-chimiques externes, permet de comprendre les tropismes végétaux.

Ainsi les fonctions reconnues à ces substances végétales et leur mode d'action physiologique conduisent au concept hormonal de STARLING. Il y aurait donc dans la plante, comme chez l'animal, des « messagers chimiques », des « excitants fonctionnels » susceptibles d'influencer la cellule vivante à des doses extrêmement faibles ⁽²⁾. Leur action multiple et variée montre, cependant, qu'elles sont moins spécifiques que beaucoup d'hormones animales qui ne possèdent le plus souvent qu'une fonction bien déterminée.

Aussi est-il tout à fait plausible d'admettre que, dans l'organisme

(1) D'après la nomenclature proposée à la réunion d'étude de l'Institut international de Coopération intellectuelle (Paris 1^{er} et 2 octobre 1937).

(2) La quantité minima d'hormone permettant d'atteindre le seuil d'excitation pour 1 gramme d'organisme est de 0,0001 pour l'auxine-test avoine (F. W. WENT et K. V. THIMANN) et de 0,1 avec l'ester benzoïque-3 de la dihydro-folliculine qui est le produit étalon-test souris (M. SIVADJIAN).

végétal, les corrélations fonctionnelles sont d'ordre chimique, humoral, et qu'elles présentent des analogies frappantes avec celles qui se manifestent dans l'organisme animal.

Assez récemment, on a montré que les auxines ne sont pas le patrimoine exclusif du monde végétal, et qu'elles existent dans différents tissus, dans diverses sécrétions et excrétions des animaux. L'urine humaine, particulièrement riche, a été utilisée par KÖGL d'Utrecht pour l'obtention de ces phytohormones à l'état pur et cristallisé. Mais jusqu'ici on a admis que les produits actifs contenus dans la matière animale avaient une origine exogène et, en particulier, on a fait dériver l'auxine urinaire existant chez l'homme des matières alimentaires ingérées.

Il y a quelques années, M. ROSE ⁽¹⁾ suggérait que des substances travaillant comme les auxines végétales pouvaient peut-être agir dans la formation de la membrane d'activation de l'œuf. Cette idée méritait d'être vérifiée et ouvrait la voie à de nouvelles possibilités d'expérimentation. En effet, la connaissance des corrélations morphogènes qui se manifestent chez l'embryon, et par lesquelles certains centres à métabolisme élevé conditionnent la croissance des territoires cellulaires voisins, permettait de supposer, à titre d'hypothèse de travail, l'existence dans l'œuf en voie de développement de substances comparables aux auxines végétales et pouvant comme elles se révéler par la méthode du coléoptile de F. W. WENT. En outre, l'apparition de ces matières actives, ou seulement leur augmentation à un des stades de l'embryogénèse précédant l'éclosion, pouvait montrer que l'embryon est susceptible de les synthétiser aux dépens de ses propres réserves nutritives. Ainsi, une seconde origine, purement endogène, de l'hormone de croissance végétale trouvée chez les animaux, pouvait être démontrée.

C'est pour vérifier ces différentes hypothèses que j'ai entrepris une série de recherches sur différents animaux, Vertébrés et Invertébrés. Les résultats obtenus font l'objet du présent mémoire pour lequel le plan suivant a été adopté.

Dans une première partie, j'ai cru faire œuvre utile en essayant une mise au point aussi précise que possible de la question des auxines végétales à l'heure actuelle. Cette analyse comprend

(1) Maurice ROSE, *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*, 67, 1933, p. 445-460.

cinq chapitres où sont exposés, à côté des premiers travaux qui ont mis en évidence les phytohormones, et des résultats plus récemment acquis sur leur physiologie, les méthodes de travail des deux catégories de chercheurs — botanistes et chimistes — dont les efforts conjugués ont abouti en quelques années à l'isolement de ces substances à l'état pur et cristallisé et à la connaissance de leur structure chimique.

La deuxième partie comporte, outre l'histoire relatif à la découverte des auxines dans le règne animal, l'exposé de nos recherches personnelles : technique et résultats.

Enfin la troisième partie est entièrement réservée à la discussion des faits observés.

Des conclusions où nous essayons de dégager les résultats les plus généraux de notre étude, et une partie bibliographique, terminent le mémoire.

PREMIÈRE PARTIE

LES AUXINES DANS LE RÈGNE VÉGÉTAL

CHAPITRE PREMIER

LES SUBSTANCES DE CROISSANCE

a) *La notion de substances de croissance.*

La notion de substances de croissance n'est pas née brusquement. Elle a pris corps dans la lente et longue évolution des idées qui, successivement, ont essayé d'expliquer les réactions tropistiques des végétaux ⁽¹⁾.

En effet, dès 1693, RAY interprétait la courbure phototropique comme due à un accroissement plus grand de la plante du côté opposé à la lumière. Beaucoup plus tard, ses idées furent reprises et défendues par de CANDOLLE (1832), puis combattues par SACHS. Par la suite vinrent les travaux de Ch. et F. DARWIN (1880), de ROTHERT (1894-1896) et de FITTING (1907). BOYSEN-JENSEN, le premier (1910), admet l'existence dans le coléoptile ⁽²⁾ d'avoine d'une substance qui, active sur la croissance, est aussi un facteur de courbure phototropique ; mais il ne parle pas d'un mouvement spécial de la matière active.

C'est en 1918 que les conclusions les plus précises sont apportées par PAÁL.

Ce dernier coupe l'extrémité d'un coléoptile, puis la remet en

⁽¹⁾ Pour une bibliographie plus détaillée jusqu'en 1918, voir l'ouvrage de M. ROSE : la question des tropismes.

⁽²⁾ Le mot coléoptile est employé dans la littérature botanique indifféremment au masculin ou au féminin. Même diversité dans les lexiques. J'ai adopté le genre masculin (Littré).

place après avoir enduit les deux surfaces de la coupure de gélatine. Il constate que, sur l'organe soumis ensuite à la lumière unilatérale, la réponse à l'excitation se fait de la même manière que sur l'organe intact mais avec une vitesse un peu moins grande. La substance qui provoque la courbure peut donc diffuser à travers la gélatine. PAÁL montre également que le transport peut se faire à travers des lamelles de jonc. Mais si on interpose une plaque de métal ou de mica, ou du beurre de cacao, entre le coléoptile et son extrémité, on ne voit aucune réaction se produire sur l'organe soumis à la lumière unilatérale. Les corps imperméables arrêtent donc la diffusion de la substance; ainsi se trouve écartée l'idée d'une transmission physique (électrique ou autre). PAÁL (1919) admet « que la pointe du coléoptile est le siège du centre de régulation de croissance » et que la substance active, également distribuée de tous les côtés, se déplace de haut en bas à travers les tissus vivants. Dans la zone de croissance, elle a normalement une activité symétrique qui se traduit par une élongation régulière mais, si le mouvement de transport est dérangé d'un côté, la croissance de cette face diminue, ce qui provoque la courbure de l'organe. PAÁL établissait ainsi que la croissance du coléoptile est contrôlée par la pointe au moyen d'une substance diffusible.

Cette théorie fut confirmée par SÖDING (1923-1925) qui a montré à l'aide de mesures précises de croissance en longueur, et non plus par la méthode des courbures, que l'élongation du coléoptile est arrêtée par décapitation et qu'elle reprend quand on remet la pointe sur la souche. C'est SÖDING qui, le premier, a introduit dans la littérature botanique le terme d'hormone de croissance.

De nombreux auteurs étendirent ces recherches et étudièrent plus spécialement la question des substances qui modifient la croissance des végétaux supérieurs. Les principaux sont : STARK (1919-1921), STARK et DRESCHSEL (1922), BEYER, NIELSEN (1925), CHOLODNY (1924-1926), SEUBERT (1925), GRADMANN (1925), DOLK (1926), F. W. WENT (1926-1927), GORTER (1927).

Les faits constatés sont les suivants (fig. 1 à 4) :

La pointe du coléoptile d'avoine accélère la croissance de la plantule. Les germinations décapitées croissent, pendant les cinq premières heures qui suivent l'opération, plus lentement que celles qui sont intactes; mais si, immédiatement après la décapitation, on remet la pointe en place, la croissance est nettement plus rapide

que chez les plantes simplement décapitées (PAÁL, NIELSEN, SNOW, BEYER, SEUBERT, DOLK, etc.). Quand on replace la pointe sur le côté du coléoptile et non plus en son milieu, la plantule se courbe sur le côté opposé (PAÁL, NIELSEN, SNOW, BEYER, DOLK, F. W. WENT). Il est manifeste que la pointe accélère la croissance.

Il a été montré, en outre, qu'une nouvelle pointe physiologique

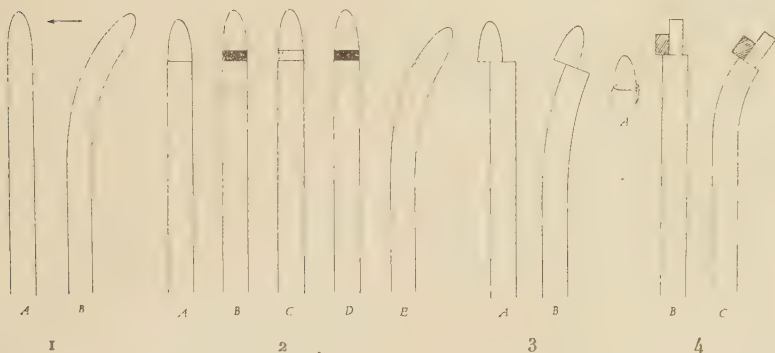


Fig. 1 à 4. — Schémas représentant les principales étapes expérimentales qui ont conduit au concept de l'hormone de croissance végétale.

1. Expérience de DARWIN (1880) : l'excitation lumineuse unilatérale de l'extrémité d'un coléoptile (A) déclenche à distance une courbure phototropique (B).
2. Expérience de PAÁL (1918) : la substance de croissance est arrêtée (B-D) par un disque de mica ou de métal ; tandis qu'elle peut diffuser au travers de plaques de gélatine ou de jonc (C-E).
3. Expérience de STARK (1921) : une pointe de coléoptile placée sur le côté d'une souche décapitée (A) provoque une courbure dans le sens opposé (B).
4. Expérience de F. W. WENT (1928) : l'hormone recueillie dans un bloc de gélose (A) porté latéralement sur une plantule dépourvue de sa pointe (B) cause une croissance asymétrique qui se manifeste par une courbure en direction inverse (C).

se forme à l'extrémité de la souche des coléoptiles 2 à 3 heures après la décapitation. Si la zone la plus élevée d'une souche privée de sa pointe depuis un certain temps est coupée, puis placée sur un coléoptile fraîchement décapité, la croissance de ce dernier n'est pas interrompue (SÖDING, 1925 ; COSTER, 1927). Ainsi l'extrémité de la souche possède après un certain temps un pouvoir accélérateur de croissance correspondant à celui d'une pointe. Cette régénération physiologique de l'extrémité de la souche explique l'ancienne obser-

vation de ROTHERT (1894) qui avait constaté que la sensibilité tropique revenait quelques heures après la décapitation.

Les résultats obtenus sur le coléoptile d'avoine ont été confirmés sur un grand nombre d'autres plantes. Les recherches de BEYER (1925) sur l'*Helianthus*, de CHOLODNY (1926) sur le cylindre hypocotylé du *Lupin*, de SÖDING (1926) sur la hampe de différentes inflorescences, n'ont fait que généraliser les vues de PAÁL. L'ensemble de tous ces travaux, poursuivis avec beaucoup de méthode, permet d'attribuer les tropismes à une distribution asymétrique de la substance provoquant la croissance.

b) *Son extraction dans une gelée d'agar.*

Après les recherches de PAÁL, différents auteurs essayèrent d'extraire les substances actives de la pointe des coléoptiles et de les isoler. STARK (1921) introduisit l'usage de petits blocs d'agar contenant des extraits de pointes qu'il plaçait sur le côté de coléoptiles décapités. Il n'obtint jamais de courbures négatives traduisant l'élongation cellulaire. NIELSEN (1921), puis SEUBERT (1925), en opérant de même, obtinrent des courbures positives tout à fait inattendues. Cette inhibition qui paraissait alors très complexe a été depuis l'objet d'explications satisfaisantes.

L'inaptitude des extraits de plantes à provoquer la croissance des jeunes coléoptiles serait due à la destruction des auxines par les enzymes végétaux, mis en liberté par les cellules écrasées lors du broyage des tissus (THIMANN, 1934; KORNMAN, 1935; OVERBEEK, 1935-1936).

GORTER (1927) avait montré qu'un extrait actif sur la croissance, c'est-à-dire capable d'induire les courbures négatives, le faisait 2 heures 1/2 après l'application des blocs d'agar et que, dans cet intervalle de temps, on n'obtenait jamais de courbures positives. Celles-ci apparaissent généralement au bout de 3 heures et seraient dues à la régénération de la pointe physiologique de la souche. Cette explication est justifiée par les expériences récentes de SKOOG (1937) qui a prouvé qu'un bloc d'agar pur, apposé symétriquement à l'extrémité d'un coléoptile décapité, inhibe considérablement la formation d'une nouvelle pointe physiologique. Dans les expériences de NIELSEN et SEUBERT, le bloc d'agar inhibe partiellement la régénération de la pointe, et, la quantité d'auxine devenant plus

grande sur la face opposée, celle-ci croît plus rapidement et cause la courbure positive inattendue.

Cependant, SEUBERT (1925) put mettre en évidence que des cubes d'agar imprégnés de salive, ou d'extrait de malt, placés sur le côté de coléoptiles décapités provoquaient une forte courbure de ceux-ci.

Après ces différents essais, WENT FILS (1926-1928) imagina un ingénieux procédé qui lui permit d'obtenir la substance active émanant de la pointe du coléoptile. Le mode opératoire est le suivant : un certain nombre de coléoptiles sont décapités et les pointes disposées régulièrement sur des plaques d'agar, de gélatine ou d'acide salicylique. On les y laisse pendant 2 heures. Un certain temps après avoir retiré ces pointes, — temps nécessaire à une égale répartition de la substance de croissance dans tout le milieu de diffusion —, les plaques d'agar ou de gélatine sont découpées en cubes égaux. Placés sur toute la surface de section de coléoptiles décapités, ces cubes déterminent une reprise de l'allongement vertical ; s'ils sont posés latéralement, le côté de la souche en contact avec l'agar s'accroît plus que l'autre et l'action du cube se manifeste alors par une forte courbure négative. Des fragments d'agar n'ayant pas reçu de pointes isolées ne donnent aucune réaction de croissance.

Ces faits confirment la réalité d'une substance émise par l'extrémité de la plantule, qui se propagerait à partir de cette région et pourrait être recueillie grâce à sa facile diffusion dans certains milieux.

c) *Les données quantitatives.*

Le perfectionnement apporté par la technique de F. W. WENT a été de montrer que, pour un temps donné, la courbure d'une souche de coléoptile est proportionnelle à la concentration de la substance active dans le bloc d'agar. Deux expériences délicates et expressives démontrent cette proportionnalité.

On fait diffuser dans des plaques d'agar de mêmes dimensions les substances actives provenant d'un nombre variable de pointes de coléoptiles ; on obtient ainsi des cubes de concentrations diverses ; ceux-ci portés sur des souches décapitées provoquent des courbures d'amplitude différente en rapport avec la concentration.

On peut aussi prélever un cube d'agar dans une plaque de gélose dont la teneur en substance est connue ; et on le place sur un bloc d'agar pur de même grandeur. Après un certain temps de contact,

on remarque que les deux blocs sont également susceptibles de provoquer l'incurvation d'une souche décapitée. Mais dans ces conditions, la mesure de l'angle de courbure n'est plus que la moitié de celle de l'angle primitif. Ceci prouve que la substance de croissance a diffusé du bloc donneur dans le bloc récepteur et que, ceux-ci étant égaux, la concentration est devenue deux fois moins forte dans chacun.

Cependant cette proportionnalité n'existe plus pour de grandes quantités de substance de croissance. Les expériences montrent en effet qu'un angle limite, ou angle maximum, ne peut être dépassé. Au-dessus d'une certaine concentration, les courbures obtenues en 90-110 minutes cessent de croître et, selon les conditions expérimentales, les valeurs de l'angle varient entre 15 et 35°. WENT a essayé de rechercher les causes de cette limite. Pour lui, deux éléments indépendants seraient nécessaires à la croissance du coléoptile : l'auxine venant de la pointe et le facteur alimentaire, ou un complexe de facteurs, venant de la base (WENT, 1935 *a*). Ce dernier facteur était désigné, il y a quelques années, par le terme « *Zells Streckung-material* » qui peut être traduit « matériel d'extension de la cellule » (WENT, 1928). Ce couple d'éléments constituerait un curieux exemple de ce que BLACKMANN (1905) appelait « *limiting factors* ». Pour WENT, l'angle maximum serait dû à la déficience du facteur alimentaire.

d) *La non spécificité des substances de croissance
répandues dans le règne végétal.*

STARK (1921) montra le premier que les substances de croissance des végétaux supérieurs avaient une action non spécifique sur une espèce végétale donnée : on peut placer sur des coléoptiles décapités des extrémités provenant de plantules d'autres espèces, et même d'autres genres, et provoquer ainsi la réaction de croissance. Parfois il arrive que cette action est plus énergique que sur le coléoptile intact. C'est le cas du cotylédon d'orge surmonté de l'extrémité d'un coléoptile d'avoine (STARK et DRECHSEL, 1922) ; la substance diffusée par la pointe du coléoptile d'avoine est donc plus active, ou se forme en plus grande quantité, que celle que produit la pointe de la tigelle d'orge. On a pu également provoquer la croissance de plantules d'avoine avec de la substance extraite du maïs. Celle-ci a encore une action nette sur des monocotylédones, comme le *Tradescantia*, et

même sur des dicotylédones, comme *Bellis perennis* (UYLDERT, 1927). UYLDERT a montré en outre que la croissance d'un pédoncule de pâquerette est arrêtée lorsqu'on enlève le bouton, mais qu'elle reprend quand celui-ci est remplacé par un fragment de gélose contenant de la substance émanée d'un coléoptile d'avoine ou de maïs.

Ces faits ont permis de supposer que la substance de croissance serait très répandue dans le règne végétal et présenterait partout les mêmes propriétés physiologiques.

Cependant, quelques essais qui tendaient à prouver la généralité de l'action des auxines végétales sur l'avoine ayant échoué, la théorie de la non spécificité fut quelque peu ébranlée. C'est alors que SÖDING (1936) entreprit une série de recherches qui devaient lui redonner toute sa force. Il commença par démontrer que si le test avoine restait sans riposte sous l'action des substances extraites de vieilles feuilles d'*Ailantus glandulosa* ou d'*Heliopsis lævis*, le test *Cephalaria tatarica* réagissait nettement. Il attribua cette différence de comportement à la plus grande sensibilité du second test. Il montra par la suite que les auxines de différentes plantes (*Synphoricarpus racemosus*, *Taxus cuspidata*, *Rheum Rhaponticum*, *Cyclamen persicum*), pures ou mélangées à de l'auxine d'*Avena* ou de *Cephalaria*, étaient toujours actives sur les tests d'*Avena* ou de *Cephalaria*. Ainsi SÖDING a prouvé nettement que l'auxine n'a pas une action spécifique, et qu'elle est livrée surtout par les parties jeunes du végétal.

Les recherches de F. KÖGL (1931-1933), qui ont montré que trois substances chimiquement différentes agissaient de la même manière sur la croissance par élongation du coléoptile d'avoine, corroborent cette façon de voir. La non spécificité paraît donc à l'heure actuelle solidement établie.

e) *Hormone de croissance des racines.*

Elle fut entrevue par VAN DER LEK (1925) qui, étudiant l'influence des facteurs internes sur la formation des racines de diverses boutures (*Salix caprea*, *Salix aurita*, *Populus alba*, *Vitis vinifera*, etc.) remarqua l'action stimulante exercée par la présence d'un bourgeon. Il montra, que l'activité rhizogène, importante quand le bourgeon se développait rapidement, diminuait si celui-ci était enfermé dans une enveloppe de plâtre de Paris, et qu'elle disparaîs-

sait presque entièrement si le bourgeon était supprimé. La formation de racines était aussi considérablement réduite si l'on incisait le cortex de la bouture au-dessous du bourgeon. VAN DER LEK, pour expliquer ces résultats, émit l'hypothèse que des hormones se formaient dans le bourgeon en voie de développement et qu'elles étaient transportées à la base de la bouture où elles exerçaient leur action. Il les comparait aux hormones de division cellulaire de HABERLANDT.

Des faits analogues furent observés après, par F. W. WENT (1929), sur des boutures d'*Acalypha*. BOUILLENNE et WENT (1933) recueillirent les produits de diffusion des feuilles et des bourgeons dans des blocs d'agar et montrèrent que ceux-ci, placés sur des boutures, provoquaient l'apparition de nombreuses racines. Les extraits de polissure de riz étaient semblablement actifs. Par contre des solutions de sucre n'avaient aucune action. Ces auteurs conclurent que toute influence de nutrition pouvait être écartée et que la formation de racines était due à une substance spéciale, ou hormone de croissance, qu'ils dénommèrent rhizocaline. Elle fut retrouvée par la suite chez d'autres plantes : *Carica papaya*, *Pisum*, *Impatiens*, etc. Elle se formerait dans les feuilles et les bourgeons sous l'influence de la lumière et émigrerait vers la base où elle déterminerait la formation de racines. Son assimilation aux auxines fut d'abord repoussée car elle ne paraissait pas soluble dans l'éther. Des recherches plus récentes de THIMANN et WENT (1934), puis de THIMANN et KOEFLI (1935), ont montré que la rhizocaline n'était pas une substance pure mais un complexe formé de substances insolubles dans l'éther et, surtout, d'auxine.

La nature précise de la rhizocaline n'est donc pas tout à fait connue. Et à la suite de recherches sur les facteurs de la néoformation et de la croissance des racines, R. et M. BOUILLENNE (1938) admettent que la rhizocaline est un facteur spécial d'organisation différent de l'auxine et de l'hétéroauxine. Ces deux dernières provoqueraient la différenciation cellulaire qui conduit à la constitution de racines sur diverses boutures, lorsque celles-ci renfermeraient un facteur d'organisation représenté par la rhizocaline.

Nous verrons plus loin (1^{re} partie, chapitre V) que la plupart des travaux récents, sur l'action de l'hétéroauxine dans la physiologie de la plante, sont unanimes à lui dénier un rôle d'organisateur de structure. Elle serait tout simplement un agent excitateur de la prolifération cellulaire inorganisée, ce qui est conforme aux conceptions de BOUILLENNE.

CHAPITRE II

LES TECHNIQUES EMPLOYÉES DANS LA RECHERCHE DES AUXINES

L'existence de substances de croissance dans la plante peut être facilement démontrée en plaçant les divers organes sur le côté d'un coléoptile décapité. Mais ce dispositif, simple quoique très frappant, ne permet pas des recherches précises. Comme nous l'avons vu, la méthode de F. W. WENT a perfectionné considérablement cette technique en rendant possible l'extraction du produit actif élaboré par l'organisme végétal et la détermination de mesures quantitatives. A la suite des remarquables travaux de l'Ecole d'Utrecht, l'étude des substances de croissance est entrée dans une phase très active. L'effort des biologistes a porté sur les moyens d'extraire les auxines d'un matériel très varié, et sur la recherche de tests de réaction fidèles et sensibles.

A. — Les méthodes d'extraction.

a) *Extraction par diffusion dans l'agar.*

C'est le classique essai de WENT (1928), qu'il créa pour l'étude de l'hormone des jeunes plantules d'avoine, et qui a été employé par la suite pour tous les organes producteurs d'auxines. Les extrémités des jeunes pousses sont disposées par leur surface de section sur des plaques de gélose à 3 o/o pendant le temps nécessaire à la diffusion.

D'autres matières (gélatine, acide salicylique) ont été employées à la place de l'agar et ont donné des résultats identiques.

Certains auteurs ont cependant remarqué que les enzymes provenant des cellules coupées pouvaient inactiver partiellement l'auxine libérée. Pour éviter cette action destructive, WENT recommande d'éliminer les enzymes en laissant pendant quelques minutes

les surfaces de section des organes en contact avec du papier filtre mouillé; on ne les place qu'ensuite sur le milieu de diffusion.

L'extraction par l'agar ne permet pas tout d'abord d'obtenir l'auxine des pointes de racine. Une amélioration apportée par BOYSEN-JENSEN (1933 *b*), qui consiste à ajouter à l'agar 10 o/o de dextrose, a donné de bons résultats.

Enfin la technique de WENT a été modifiée par LAIBACH et LOTZ (1936) pour la mise en évidence rapide de l'auxine dans les organes végétaux. Les fragments des plantes à étudier sont placés dans un mélange d'agar et de dextrose. Le tout est chauffé pendant 5 minutes. Les parcelles végétales sont ensuite soigneusement enlevées et le mélange agité puis refroidi.

b) *Extraction aqueuse.*

L'extraction par l'eau pure a été employée dans de nombreux cas, malgré les critiques de certains biologistes qui prétendent que l'auxine est inactivée par les enzymes oxydantes (THIMANN, 1934). Des extraits très riches ont été obtenus de pollinies d'orchidées et du pollen d'*Hibiscus*. La technique est simple : les pollinies sont broyées finement puis traitées par l'eau. La suspension est chauffée pendant 30 minutes dans un bain-marie à une température voisine de 70°. Par centrifugation, l'extrait de substances actives est séparé des matières solides accompagnantes (LAIBACH et MASCHMANN, 1932; LAIBACH, 1932, 1937). Les mêmes auteurs ont appliqué cette méthode avec succès sur les tissus animaux.

c) *Extraction par divers solvants.*

THIMANN (1934) utilise comme solvant le chloroforme, après acidification du matériel par l'acide chlorhydrique, BOYSEN-JENSEN (1936) et FIEDLER (1936) emploient une méthode similaire qui peut être résumée de la manière suivante : les substances sont extraites par le chloroforme et la liqueur obtenue évaporée; le résidu solide est alors repris par un solvant approprié, l'eau ou l'éther. BOYSEN-JENSEN fait usage, dans ce dernier cas, d'un appareillage spécial qui laisse tomber goutte à goutte la solution éthérée d'auxine sur les plaques d'agar. L'éther se volatilise immédiatement.

Il est indispensable pour mener à bien ces opérations de n'em-

ployer que des solvants rigoureusement purs, débarrassés de toute trace de peroxyde. Le chloroforme de qualité anesthésique doit être redistillé, additionné de 0,5 o/o d'alcool, et conservé jusqu'au moment de son emploi dans l'obscurité. On obtient l'éther pur en le redistillant après lui avoir ajouté un mélange de sulfate de fer et de chaux (méthode de GABARINI, 1909).

Une extraction alcoolique a été préconisée par LAIBACH et MEYER (1935). Le matériel végétal est porté à l'ébullition dans l'alcool à 96 o/o, pendant deux heures. Après refroidissement, la liqueur obtenue est filtrée. La solution alcoolique est évaporée et le résidu repris par l'eau, ou incorporé à diverses substances, telles que l'agar ou la lanoline. Pour éloigner les matières accompagnantes et les précipiter à l'état de combinaisons inactives, MEYER conseille l'emploi de charbon actif qui est mélangé à l'extrait avant filtration.

Des méthodes plus ou moins semblables ont été employées par d'autres auteurs : VAN RAALTE (1937) extrait l'hormone contenue dans les racines de fève en utilisant l'éther et l'acide chlorhydrique ; VAN OVERBEEK (1938) utilise comme solvants l'éther préalablement purifié et l'eau distillée.

Enfin, LAIBACH et LOTZ (1936) ont mis au point un appareil automatique qui permet d'obtenir des extraits bruts de substances de croissance à partir de l'urine et de divers végétaux. Leur procédé qui nécessite de l'éther et une solution de bicarbonate de soude, est une application de la technique, créée par KÖGL (1933), que nous décrirons au chapitre III et grâce à laquelle les auxines sont obtenues à l'état pur et cristallisé.

d) *Méthode électrique de POHL.*

POHL (1936) soumet de la farine, préalablement gonflée par l'eau, à une différence de potentiel électrique. L'hormone, substance acide, est transportée à l'anode. Mais le mécanisme de ce déplacement n'est pas élucidé. Quoi qu'il en soit, le rendement réalisé à l'aide de cette méthode serait d'après l'auteur supérieur à celui de l'extraction aqueuse. POHL fait encore remarquer qu'une partie de l'auxine est inactivée par l'oxygène atomique libérée à l'électrode positive.

B. — Les tests de réaction

La plupart de nos connaissances actuelles sur les auxines végétales (formation, transport, propriétés physiologiques) résultent d'expériences qui ont été réalisées sur le coléoptile d'avoine en suivant la technique de F. W. WENT. Mais les substances de croissance n'étant pas spécifiques, on a pu utiliser différents autres tests au cours de ces dernières années. Ils sont pour la plupart basés sur la propriété essentielle de l'auxine végétale qui est de provoquer la croissance par simple élongation de la cellule.

L'hormone de croissance peut être appliquée sur la plante de réaction de diverses manières et, suivant la voie de pénétration qu'elle emprunte, il est possible de répartir ces tests en deux catégories.

I. — *La substance de croissance pénètre dans la plante par une incision faite dans les tissus.*

a) *Le test du coléoptile d'avoine de F. W. WENT.*

Les opérations doivent être conduites en cabinet noir sous certaines conditions de température et d'humidité bien définies : une température de 25° C. et un état hygrométrique voisin de 90 o/o sont le plus souvent réalisés. Les substances à étudier sont recueillies dans une gélose d'agar suivant un des derniers procédés que nous avons vus au chapitre précédent. Un cube de gélose est placé latéralement sur la section de coléoptiles décapités de race pure ⁽¹⁾. La face recevant la substance active croît d'une façon privilégiée et la plantule se courbe. L'angle de courbure, mesuré à l'aide d'un rapporteur directement sur la plantule, ou indirectement d'après son ombre portée sur un papier photographique, permet d'apprécier l'activité du produit contenu dans le fragment d'agar (WENT, 1928 ; NIELSEN, 1930).

Celle-ci s'exprime en unités. Ces dernières sont au nombre de quatre.

(1) Les auteurs hollandais ont utilisé en particulier la variété *Sieges-Hafer*.

La plus ancienne, l'*Avena-Einheit* (A. E.), a été créée par KÖGL et HAAGEN-SMIT (1931). Une *Avena-Einheit* est la quantité d'hormone qui, existant dans un bloc de gélose de $2 \times 2 \times 0,5$ mm. cause une courbure de 10° , quand la température est de 22° - 23° , et l'humidité de 92 o/o.

L'*unité plante* (p. U.) de DOLK et THIMANN (1932) est la quantité de substance active qui, introduite dans un bloc d'agar de 10 mm^3 , induit une courbure de 1° . Ces mêmes auteurs définissent une seconde unité « 1 unité par centimètre cube », représentée par la quantité d'hormone qui, contenue dans 1 centimètre cube de solution incorporée à 1 centimètre cube d'agar, et appliquée dans un bloc de 10 mm^3 , peut provoquer une courbure de 1° pour une température de 25°C . et un état hygrométrique de 85-90 o/o.

Enfin l'unité de Copenhague, *Wuchsstoff-Einheit* (W. A. E.) de BOYSEN-JENSEN (1933 b), est définie comme étant la quantité de facteurs de croissance qui, dissoute dans 50 centimètres cubes d'eau mêlée à 50 centimètres cubes de gel d'agar à 3 o/o, produit une différence de longueur de 1 millimètre entre la face traitée et l'autre face d'un coléoptile d'avoine observé après 3 heures lorsque la température est de 21° - 22° .

La précision de cette méthode est grande puisque les plantules sont sensibles à des solutions d'auxine *a* et *b* de dilution 1.10^{-9} (KÖGL et TÖNNIS, 1936).

Ce test a été employé par GRAZE et SCHLENKER (1936) pour comparer la force de deux solutions d'auxine. Sur l'extrémité de la même souche, ils placent symétriquement deux cubes d'agar ayant séjourné un temps égal l'un dans la solution la plus forte, l'autre dans la solution la plus faible. La courbure du coléoptile est opposée au cube qui est le plus riche en auxine (fig. 5).



Fig. 5. — Expérience de GRAZE et SCHLENKER (1936). A : deux cubes de gélose dont la teneur en auxine est différente sont placés symétriquement sur un coléoptile décapité ; B : la courbure caractéristique de l'auxine apparaît du côté opposé au bloc le plus riche situé à gauche.

b) *Le test auxinique de WENT exécuté à la lumière du jour.*

SÖDING (1935 a), le premier a employé le test avoine en opérant à la lumière du jour diffuse et à une température non contrôlée. Les coléoptiles se développent dans des cylindres noircis ouverts seulement à leur partie supérieure. Grâce à ce dispositif tout éclairage latéral est écarté et les plantules restent droites. La décapitation et le collage des blocs s'effectuent comme dans le test normal. En opérant ainsi, SÖDING a obtenu des flexions de coléoptiles sous l'influence de préparations hormonales diverses (*Quercus*, *Tilia*, *Cyclamen*, etc.).

La technique de SÖDING a été reprise par d'autres expérimentateurs et les résultats acquis sembleraient prouver que, dans ces conditions, la sensibilité des plantules à l'auxine est de beaucoup diminuée et qu'il n'y a pas proportionnalité stricte entre la concentration des substances actives et la courbure produite (VAN OVERBEEK, 1933-1936). L'action des auxines serait moins grande à la lumière qu'à l'obscurité⁽¹⁾.

SÖDING (1937 b) étudie à nouveau les possibilités du test avoine de WENT à la lumière. Il conclut que ce procédé, beaucoup plus commode que le test original, donne des résultats tout aussi précis sauf quand il s'agit de faibles quantités d'auxine.

Cette restriction conduit à penser que le test créé par WENT reste le plus indiqué pour la recherche quantitative des hormones d'élongation cellulaire.

c) *Le test Cephalaria (C. tatarica ou C. alpina).*

Il est dû encore à SÖDING (1935 a-1936) qui, opérant à la lumière diffuse, a montré que les jeunes plantules de *Cephalaria tatarica* étaient très sensibles à l'action des auxines et qu'elles donnaient des courbures nettes avec des concentrations d'hormones très basses pour lesquelles le test avoine apparaissait indifférent.

La technique est simple : il décapite les coléoptiles par une incision très oblique de la tige et pose le bloc d'agar sur le tiers infé-

(1) Selon l'hypothèse de KÖGL (voir plus loin : inactivation de l'auxine a lactone), on peut admettre que sous l'influence de la lumière il se produit une formation partielle de lumi-auxine a lactone laquelle est inactive.

rieur de la surface de section. Il mesure la courbure 5 heures après (fig. 6).

De ces nombreuses expériences, SÖDING conclut que pour obtenir des courbures de même intensité chez *Avena* et *Cephalaria*, il faut employer des concentrations 80 fois plus fortes que pour la première. Il a constaté d'autre part que de très fortes concentrations d'hormones pouvaient induire sur des plantules de *Cephalaria* des courbures positives.

Le test *Cephalaria* présente en outre une sensibilité saisonnière extraordinairement variable, dont les extrêmes oscillent dans le rapport de 1 en hiver, à 1.000 au printemps (SÖDING, 1937 b). Aussi n'est-il guère utilisable que pour des évaluations quantitatives d'auxine.

Un autre test : *Raphanus sativus*, a été décrit par le même auteur (1937 b) mais il est moins sensible que le test *Avena*.

d) Le test *Pisum*.

C'est par WENT (1934 b) qu'il fut employé tout d'abord. On utilise de jeunes plantules de pois de lignée pure qui ont poussé dans l'obscurité. La tigelle est d'abord décapitée à environ un demi-centimètre au-dessous du bourgeon terminal, puis elle est fendue longitudinalement sur une longueur d'environ 3 centimètres. On isole la partie ainsi traitée de la souche par une section transversale opérée quelques millimètres au-dessous de la fente. La portion de tige ainsi prélevée peut être employée pour la recherche de l'auxine. Si on la met dans l'eau pure, les deux moitiés de la tigelle se courbent vers l'extérieur par suite d'une action mécanique des tissus ⁽¹⁾. Mais si elle est plongée dans des solutions de

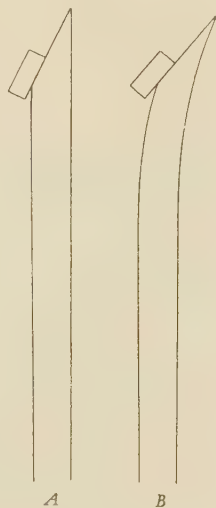


Fig. 6. — Test *Cephalaria*. Le bloc d'agar contenant l'auxine est posé sur le tiers inférieur de la section du coléoptile incisé très obliquement (A). La courbure obtenue est mesurée cinq heures après (B).

⁽¹⁾ Il existe dans les différents tissus d'une plante pluricellulaire des inégalités de turgescence qui déterminent, lorsque les tissus sont isolés, des inégalités de croissance. Ce phénomène est désigné sous le nom de tension. Les parties sectionnées de la tige de pois s'écartent et s'incurvent vers l'extérieur parce que les tissus périphériques, qui ont une tension négative, se raccourcissent.

substances de croissance, les courbures s'inversent assez rapidement et, après un séjour de 6 à 24 heures, elles sont nettement dirigées vers l'intérieur; parfois même, les deux moitiés de tige peuvent se croiser. D'après l'auteur, l'intensité de la courbure serait proportionnelle à la concentration de l'hormone. L'angle à mesurer est formé par deux tangentes, l'une menée extérieurement à la partie extrême courbée, l'autre à l'endroit où la courbure apparaît. Les

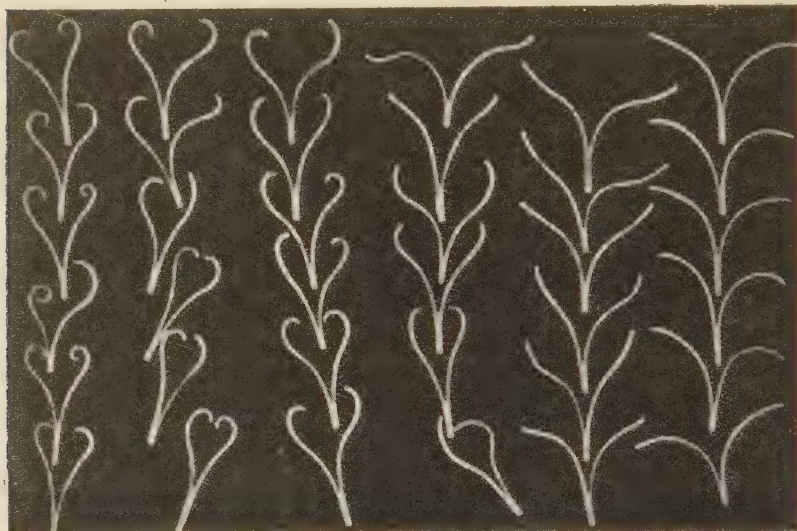


Fig. 7. — Test *Pisum*. Courbures de tiges fendues de plantules de pois étio-
lées, photographiées après douze heures d'immersion dans diverses solu-
tions d'acide indol-3-acétique. Les concentrations sont de gauche à droite :
6,45-2,15-0,645-0,215-0,0645 mmg. par litre. La dernière série a été mise dans
l'eau pure (D'après F. W. WENT et K. V. THIMANN, *Phytohormones*, The
Mac Millan Company New-York, p. 54, 1937).

mesures sont faites à l'aide d'un rapporteur modifié, soit directe-
ment sur les tigelles, soit sur leur ombre portée.

D'après WENT, la courbure vers l'intérieur due à l'auxine serait le
résultat, soit de l'inhibition de l'allongement de la surface longitudi-
nale de section, soit de l'accélération de la croissance de l'épiderme.

JOST et REISS (1936) employant cette méthode ont obtenu des
résultats contradictoires. Ils croient qu'il s'agit dans le phénomène
de courbure d'une intensification de la croissance de l'écorce, mais
ils ne peuvent expliquer pourquoi les tissus internes s'allongent

moins sous l'effet de substances de croissance. De plus ils ont constaté que la réaction ne s'observe pas avec toutes les tiges en expérience.

e) *Le test Pissenlit.*

Ce test, dû à JOST et REISS (1936), est basé sur une réaction physiologique identique à celle qui est mise en jeu dans le test pois. On peut accroître leur sensibilité en les plaçant après décapitation dans l'eau pure, et en les y laissant le jour qui précède leur utilisation. Les tiges débarrassées d'une grosse partie de leur réserve d'auxine, après lavage, répondent par des courbures intérieures plus nettes, même sous l'influence de quantités très faibles de substances de croissance.

Il est évident que les critiques formulées au sujet du test *Pisum* sont également valables ici.

Dans les cinq tests que nous venons de décrire d'une façon succincte, on a utilisé comme critère l'apparition d'une courbure d'intensité variable provoquée par l'action des substances de croissance sur diverses tiges de végétaux. Mais il est possible d'étudier aussi l'effet de ces hormones sur la plante par des mesures précises de croissance en longueur. C'est, d'ailleurs, par une méthode semblable que SÖDING (1923-1925) a montré l'influence de la pointe sur la croissance du coléoptile.

f) *Mesure de l'accroissement en longueur
d'un coléoptile d'avoine.*

Les premières tentatives sont dues à NIELSEN (1930), mais les résultats précis ont été apportés surtout par THIMANN (1933). Les plantules d'avoine sont décapitées et la feuille primaire extirpée complètement de façon que le bloc d'agar contenant l'auxine puisse être disposé symétriquement sur la surface coupée. Des plantes de contrôle reçoivent un cube d'agar pur. La mesure de l'accroissement des souches, effectuée par la méthode cinématographique, montre qu'un rapport linéaire existe entre la quantité de substance active ajoutée et la croissance produite.

Récemment (décembre 1938) R. L. WEINTRAUB a mis au point une méthode similaire, très précise, qui utilise également la croissance rectiligne des coléoptiles d'avoine.

g) *Mesure de l'accroissement longitudinal d'un petit cylindre prélevé dans un coléoptile d'avoine.*

Ce test est dû à BONNER (1933). On utilise des coléoptiles d'avoine dont la longueur est d'environ 3 centimètres. Ceux-ci, après décapitation, sont dépouillés de leur feuille primaire et débités en petites sections très courtes. Ces fragments (longs de 5 millimètres dans les expériences de BONNER), placés dans une solution d'auxine, répondent par une augmentation de croissance que l'auteur a trouvé être, dans certaines limites, approximativement proportionnelle au logarithme de la concentration de la substance active. Dans la pratique on fait deux mesures précises pour chaque cylindre, une avant l'immersion, l'autre après un séjour d'environ 12 heures dans la solution auxinique. La valeur moyenne de l'accroissement linéaire d'un certain nombre de fragments donne une mesure de l'action de la substance étudiée.

Une autre méthode, décrite par JOST et REISS (1936), utilise des cylindres de 20 millimètres de longueur. Ces portions de coléoptiles sont placées par leur extrémité apicale dans les solutions aqueuses à expérimenter. On mesure l'accroissement linéaire après 24 heures. JOST et REISS ont montré que des solutions d'hétéro-auxine s'avèrent actives pour des dilutions comprises entre 1.10^{-9} , et que la dilution optima varie entre 1.10^{-4} et 1.10^{-5} . Si on emploie des solutions très concentrées, les cellules sont détruites au contact de ces dernières mais, malgré cela, l'allongement peut se produire plus haut.

11. — *La pénétration des substances de croissance s'effectue à travers l'épiderme dans des plantes de réaction qui n'ont subi aucun traumatisme (Ces tests sont les plus récents).*

a) *Par apposition de plaquettes d'agar contenant l'auxine sur une face du coléoptile.*

Déjà NIELSEN (1930) et CHOLODNY (1931), étudiant l'effet de l'auxine sur la croissance des racines, avaient montré qu'elle était susceptible de traverser l'épiderme.

LAIBACH et KÖRNMANN (1933) appliquent cette méthode au coléoptile d'avoine. On revêt tout le côté d'un coléoptile intact de petites plaques d'agar. Cette mosaïque de gélose forme ainsi un demi-manchon dans lequel est enfermée une face de la plantule de réaction. Les courbures sont très marquées mais il apparaît nettement que la concentration en auxine doit être supérieure à celle qui est active dans le test de WENT.

b) *Par application d'une pâte de substance à base de lanoline.*

Dans cette méthode due à LAIBACH (1933-1935), l'auxine est mélangée à de la lanoline (suint pur et anhydre). La pâte obtenue plus ou moins concentrée, facile à étendre sur les plantes de réaction, conserve ses propriétés actives plusieurs semaines. Les nombreux essais de LAIBACH ont porté sur les organes végétaux les plus divers (coléoptiles, épicotyles, racines aériennes, etc.). L'auxine était fournie par des extraits de pollinies d'orchidées exotiques. Beaucoup d'essais ont été réalisés depuis avec une pâte formée de lanoline et d'acide β -indolylacétique.

BRECHT (1936) s'est également servi de lanoline comme matière absorbante d'auxine et il a obtenu des pâtes de concentrations diverses à partir de l'urine, de pollinies d'orchidées et de la farine de maïs. La pâte auxinique étalée sur la face étroite de coléoptiles d'avoine provoque la courbure de ceux-ci et BRECHT trouve, dans certaines limites, un rapport linéaire entre la concentration de la pâte auxinique et le degré de courbure des plantules de réaction. Il a poursuivi ses expériences également sur l'*Helianthus*.

JOST et REISS (1936) ont montré que la plus basse concentration nécessaire pour produire une courbure de coléoptile était cependant 10 fois plus grande que celle qui provoque le même effet lorsqu'on emploie des plaques d'agar.

c) *Par badigeonnage au pinceau.*

SCHLENKER et MITTMANN (1936) badigeonnent le bourgeon terminal de plantes d'*Epitobium* cultivées en terre avec une solution d'auxine. Ils remarquent que peu de temps après, les internœuds des plantes traitées par l'hormone de croissance sont deux fois plus longs que chez les témoins. La méthode peut être appliquée avan-

tageusement à d'autres espèces végétales. Les résultats sont positifs pour une dilution égale à 1.10^{-6} .

D'après SCHLENKER et MITTMANN, cette méthode n'est pas applicable à la détermination précise de quantités d'auxine car l'élongation provoquée ne se manifeste pas seulement par des phénomènes locaux facilement mesurables (courbures), mais par la croissance globale de la plante.

III. — *Autres méthodes.*

Elles traduisent les effets secondaires qui, d'ailleurs, se révèlent de plus en plus nombreux, de l'action des substances de croissance sur l'organisme végétal.

Nous citerons :

a) *Les réponses épínastiques des tiges sous l'action des substances de croissance.*

Mlle UYLDERT (1931) a donné une explication physiologique de l'épínastie ou épixylie ⁽¹⁾ qui serait due à une croissance asymétrique provoquée par l'auxine. HITCHCOCK (1935) a basé sur cette donnée un test de recherches des auxines. Par application d'une pâte d'hormone sur la partie dorsale (face supérieure) de la base des pétioles d'une plante de tabac, on provoque un accroissement des angles formés entre ces pétioles et la tige (hyponastie). Cette augmentation correspond à l'activité de la pâte essayée.

Mais une telle méthode ne doit être employée qu'avec d'innombrables précautions, car HITCHCOCK (1935) lui-même a montré un peu plus tard que l'action de l'auxine n'est pas localisée seulement au pétiole traité mais qu'elle s'étend sur celui qui est placé au-dessous. De plus, le test n'est pas rigoureusement spécifique puisque divers acides essayés : les acides pyruvique, malonique, benzoïque, sont également actifs.

⁽¹⁾ Redressement de la feuille vers le bourgeon. L'hyponastie ou hypoxylie désigne l'abaissement de la feuille.

b) *L'effet inhibitif de l'auxine sur la croissance des racines.*

Mis en évidence par NIELSEN (1930), CHOLODNY (1931 *b*), il a été utilisé par KOCH (1934) comme test de recherches. La technique donnée est la suivante : des racines de pois non décapitées, et rigoureusement verticales, reçoivent sur un côté un ruban de gélose contenant l'auxine. L'hormone pénètre au travers de l'épiderme et inhibe la croissance sur la face traitée. L'allongement restant normal sur le côté opposé, il en résulte une courbure qui s'oriente vers la bande d'agar. L'intensité de la courbure semble correspondre à la quantité d'auxine appliquée. Si l'on place symétriquement sur la même racine deux plaques d'agar dont la concentration est différente, on constate bientôt que la courbure est dirigée du côté le plus riche en substance. La méthode de Koch permet donc des mesures quantitatives.

c) *L'action activatrice de l'auxine sur la formation de racines chez les boutures.*

C'est NEMEC (1930) qui le premier a montré l'activité des cultures de *Bacterium tumefaciens* sur le développement de nouvelles racines. WENT (1934 *a*) imagine un test *Pisum* : de jeunes plantules étiolées, longues d'une dizaine de centimètres, sont coupées légèrement au-dessus du premier nœud ; le bourgeon terminal est décapité et la tige ainsi préparée fendue longitudinalement sur 1 ou 2 centimètres à partir de la pointe. Cette extrémité apicale est plongée dans la solution d'auxine pendant 15 heures ; les deux moitiés de la tige présentent alors les courbures intérieures caractéristiques dues à l'auxine. Les boutures sont ensuite placées en position normale dans une solution nutritive de sucre à 2 o/o, puis dans l'eau pure. Le nombre de racines apparues est une mesure de l'activité de la solution. L'unité-racine est la concentration nécessaire par centimètre cube, à la production d'une racine dans des conditions constantes. Dans les expériences de WENT (fig. 8), l'auxine est transportée polairement, mais, si on emploie des doses élevées, on peut provoquer l'apparition de racines par application directe de l'hormone à la base de la bouture (Dans ce dernier cas, les résultats manquent de précision).

Peuvent être aussi utilisées comme tests : l'action inhibitrice de l'auxine sur le développement des bourgeons latéraux (THIMANN et SKOOG, 1933-1934) ainsi que les callosités et enflures provoquées

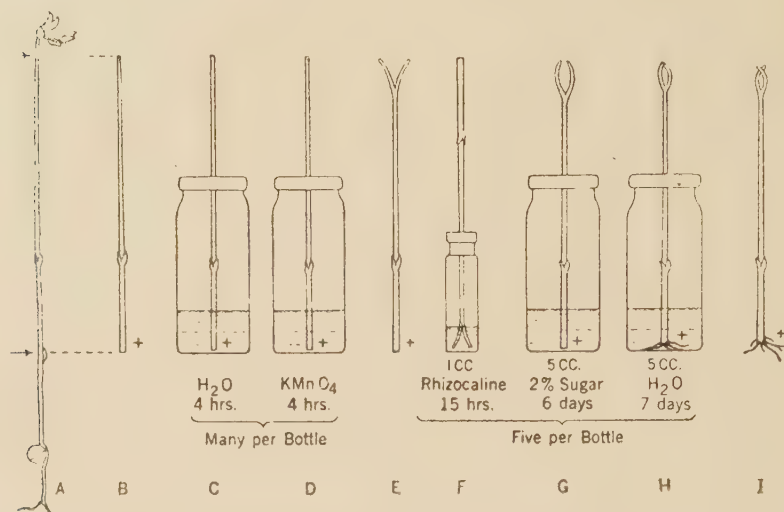


Fig. 8. — Test *Pisum* de F. W. WENT, basé sur l'action activatrice de l'auxine sur la formation de racines chez les boutures. (D'après F. W. WENT et K. V. THIMANN, *Phytohormones*, The Mac Millan Company New-York, p. 187, 1937).

par l'application d'hormone de croissance sur divers organes végétaux et bien étudiées par de nombreux auteurs.

C. — La valeur de ces différents tests au point de vue expérimental.

Ainsi que le montre ce rapide exposé, le nombre de tests utilisés pour la recherche et la détermination quantitative des substances de croissance s'est considérablement accru au cours de ces dernières années. Tous ont la propriété commune, et remarquable, de réagir sous l'apport de quantités extrêmement faibles d'hormone. Cette grande sensibilité, cependant, ne permet pas de leur attribuer une valeur identique pour des recherches expérimentales.

Nous avons vu que les nombreuses modifications apportées par

divers auteurs à la technique du test avoine de WENT se traduisent en général par des diminutions de sensibilité vis-à-vis de l'auxine.

De plus, une réserve toute spéciale doit être faite au sujet de la précision des dernières méthodes, indiquées au paragraphe B-III, car elles reposent sur des actions physiologiques diverses, très complexes et assez mal connues.

Enfin les recherches de K. V. THIMANN (1934) ont démontré que les tests qui paraissent les plus constants : test du coléoptile d'avoine de WENT, test *Pisum*, test du cylindre de coléoptile d'avoine, pouvaient réagir de manière différente sous l'action de certains corps chimiques. Ainsi les homologues cycliques de l'hétéroauxine, les acides indène-3-acétique et coumarone α -acétique, qui sont inactifs ou presque dans le test avoine, possèdent une activité égale au 1/5 de celle de l'hétéroauxine dans le test *Pisum*. Dans des travaux postérieurs, F. W. WENT et HAAGEN-SMIT (1935) ont constaté, d'autre part, que les acides phénylacétique, phénylpropionique, ainsi que l'acide allo-cinnamique, inactifs d'après le test avoine de WENT, exercent une activité moyenne sur le test pois. L'emploi du cylindre de coléoptile attribue à ces trois acides une valeur intermédiaire à celles qui sont trouvées dans les deux autres tests ⁽¹⁾.

Ainsi des substances peuvent manifester une importante activité sur l'élongation cellulaire sans être capables de provoquer la courbure caractéristique des auxines sur le coléoptile d'avoine.

Pour expliquer ces différences de comportement, on a d'abord invoqué l'hypothèse par laquelle ces produits de nature acide agiraient en modifiant le *pH* cellulaire, mais, comme nous le verrons (Chapitre V-II-*b*), cette théorie a été abandonnée.

L'examen des faibles courbures produites par l'acide indène-3-acétique sur le coléoptile d'avoine montre que celles-ci sont restreintes à une courte région ne dépassant pas 3 à 4 millimètres au-dessous du point d'application. Cette action localisée fait immé-

⁽¹⁾ Des faits analogues sont retrouvés dans la détermination biologique des hormones sexuelles. Ainsi pour l'iso-androstérone, la dose active sur les vésicules séminales est de 500 γ tandis qu'elle est de 10-20 γ sur la crête de coq. De même, les acides androstanone carboxyliques à haute dose produisent l'œstrus chez le rat castré, mais ils sont inactifs sur la crête du chapon (M. Joseph SIYADJIAN, *La chimie des vitamines et des hormones*, Gauthier Villars, Paris, 1938).

diatement penser à la difficulté qu'aurait l'acide à se propager dans les tissus de la jeune plantule. Ces faits ont conduit THIMANN (1935) à admettre qu'une substance se révèle active sur le coléoptile d'avoine lorsqu'elle possède deux propriétés :

- 1° Celle de provoquer l'élongation cellulaire (activité primaire).
- 2° Celle d'être transportée de haut en bas dans le coléoptile vers le point où elle doit exercer son action (activité secondaire).

Par conséquent des substances peuvent ne posséder que l'activité primaire, c'est-à-dire être très actives sur le test *Pisum* (acide indène-3-acétique, acide coumarone α -acétique, etc.), et rester sans action, ou presque, sur le test avoine de F. W. WENT.

Des recherches précises ont essayé d'établir si des solutions équimoléculaires de divers produits avaient une activité identique sur le test *Pisum*. Les résultats ont montré que l'auxine *a*, les acides indol-3-propionique, indol-3-butyrique et α -naphtylacétique, en solutions étendues, atteignent la même activité par molécule. Dès lors, la faible action de certains de ces produits sur le test avoine ne peut s'expliquer que par l'intervention de facteurs secondaires. Parmi ceux-ci figureraient : le transport — qui sera étudié plus loin —, la perméabilité de la cellule vis-à-vis du produit, à laquelle pourrait s'ajouter la solubilité plus ou moins grande de la substance dans les lipoïdes ou l'eau, et, enfin, une sensibilité plus ou moins rapide à l'inactivation des facteurs de croissance.

Il semble résulter de toutes ces observations que dans les tests *Pisum* et cylindre de coléoptile d'avoine, — méthodes basées sur l'immersion —, la pénétration des substances s'effectue non seulement par les deux surfaces coupées, mais aussi à travers l'épiderme, puisque le végétal réactif est entièrement en contact avec la solution à étudier.

L'introduction des produits, considérablement facilitée, expliquerait la réaction plus intense de ces deux derniers tests à l'égard de divers éléments chimiques.

Mais le test de courbure de la plantule d'avoine, le plus spécifique, reste aussi le plus précis car il exprime un transport polarisé de la substance active depuis la pointe jusqu'à la base du coléoptile.

CHAPITRE III

LA CHIMIE DES AUXINES

La chimie des auxines est très avancée. KÖGL d'Utrecht et ses collaborateurs, qui les ont isolées à l'état pur et cristallisé, ont pu également, à la suite de longues recherches qui comptent parmi les plus remarquables de la biochimie moderne, établir la formule de constitution des deux auxines *a* et *b*. En outre, ils ont découvert une hétéroauxine qu'ils ont identifiée à l'acide indol-3-acétique. Ils ont réalisé, en dernier lieu, la synthèse d'un « acide auxine glutarique » ce qui éclaire la structure définitive des deux auxines *a* et *b* pour une bonne partie de leur molécule.

On peut juger de l'effort accompli par ces chimistes quand on sait qu'en octobre 1930, époque où ils commencèrent leurs travaux d'extraction, on ignorait à peu près entièrement les propriétés physico-chimiques des hormones provoquant l'élongation cellulaire des végétaux. F. W. WENT (1928) avait pu, par la mesure du coefficient de diffusion, attribuer à la substance élaborée par la pointe du coléoptile d'avoine un poids moléculaire voisin de 376. D'autre part, il avait indiqué que ce produit actif, stable à l'ébullition et à la lumière, n'était pas de nature inorganique.

I. — *Auxines a et b.*

A. — Extraction chimique de l'hormone de croissance.

Il s'agissait d'isoler la substance de croissance en quantité suffisante pour en faire l'analyse. Pour la déceler dans les milieux les plus divers et pour suivre l'enrichissement progressif de la matière traitée au cours des opérations chimiques d'extraction, KÖGL se servit du test avoine de F. W. WENT. Et pour exprimer la valeur auxinique des produits étudiés, il créa (1933), en accord avec ce

dernier, une unité avoine. Celle-ci — *Avena Einheit* (A. E.) — nous l'avons vu déjà, représente la quantité d'hormone qui doit exister dans un bloc de gélose à 3 o/o de $2 \times 2 \times 0,5$ mm. pour causer chez le coléoptile de réaction une courbure de 10°, lorsque la température est de 22°-23° C et l'état hygrométrique de 92 o/o.

Les plantes de test subissent deux décapitations. Les blocs de gélose imbibés de la solution de substance à essayer contenant des traces d'électrolyte (160 mgr. de ClK et 0 cm³ 2 d'acide acétique glacial par litre) sont placés sur les coléoptiles immédiatement après la deuxième décapitation qui, d'après H. G. VAN DER WEIJ, s'effectue 90' après la première.

a) *Etat naturel et distribution.*

Dès 1925, E. SEUBERT découvrait dans la salive humaine l'existence d'une faible quantité de substance de croissance. Ce fait autorisait à penser que l'hormone d'élongation cellulaire devait être très répandue.

Quelques années plus tard, NIELSEN (1930-1931 a) constatait que deux champignons pathogènes — *Rhizopus suinus* et *Absidia ramosa* — libèrent dans le milieu nutritif sur lequel ils se développent une substance active soluble dans l'eau, l'éther pur, l'alcool et l'acétone et capable d'accélérer la croissance des plantules d'avoine décapitées. En utilisant la solubilité de cette substance, il put préparer une solution enrichie, 7.000 fois plus active, qu'il appela « rhizopine ».

La pauvreté en hormone de croissance des pointes d'herbes rendait l'extraction de l'élément actif, sinon impossible, tout au moins difficilement réalisable (1). Aussi KÖGL et ses collaborateurs (1933 a) essayèrent-ils de déterminer si la substance efficace trouvée dans le milieu nutritif des champignons était identique à celle qu'élaborait l'extrémité des coléoptiles de maïs. Ils décapitèrent 100.000 plantules âgées de six à sept jours. Le suc provenant des pointes fut recueilli en plaçant celles-ci durant plusieurs heures sur du sable humide et pur. L'hormone ne put être extraite par

(1) Une équipe de 8 personnes pouvant décapiter 100.000 plantules de maïs en 10 jours, il faudrait 500 ans pour obtenir 260 mmg. d'auxine à l'état pur et cristallisé (F. KÖGL, Naturwiss, t. XXI, pp. 17-21, 1938).

l'éther qu'après acidification. Ceci prouvait que la substance de croissance des pointes de maïs est de nature acide et qu'elle est soluble dans l'éther. Elle leur parut également thermostable. Simultanément DOLK et THIMANN (1932), étudiant la substance active émise par *Rhizopus*, tiraient des conclusions analogues.

Après ces recherches, qui établissaient une certaine identité entre les deux hormones de croissance, ils étudièrent les champignons susceptibles de constituer les meilleures sources et dont la culture est facile. *Rhizopus suinus*, ne se développant qu'à une température de 35°, fut abandonné. Mais pour divers champignons dont la culture se poursuit à des températures normales : *Rhizopus Delemar* Boid, *Rhizopus nigricans* Ehrenberg, *Rhizopus reflexus* Bainier et *Rhizopus tritici* Saito, ils purent retrouver le produit actif. Celui-ci fut encore mis en évidence dans *Bacillus coli*. Enfin signalons que BOYSEN-JENSEN (1932) l'avait déjà décelé dans *Aspergillus niger* et diverses bactéries et que NIELSEN (1931 *b*) l'avait reconnu dans la levure de bière.

Malgré la possibilité de procéder à l'enrichissement des milieux de culture de *Rhizopus reflexus* et *Bacillus coli*, des eaux de lavage des levures de boulangerie, ces diverses matières ne furent pas utilisées, KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN ayant trouvé dans l'urine une source particulièrement riche et accessible en corps de croissance ⁽¹⁾.

b) Isolement de l'auxine a et de sa lactone à partir de l'urine humaine.

L'examen de différentes urines a montré que la gravidité n'augmentait pas la teneur en auxines. Leur activité respective est établie dans le tableau suivant :

A. E. par mmg.

Urine humaine :

Moyenne de 160 cas	2.400
Variations normales	1.000 à 5.000
Valeurs extrêmes	250 à 13.000

⁽¹⁾ D'ailleurs, comme nous le verrons plus loin, il a été établi aujourd'hui que l'hormone de croissance produite par les champignons et les microorganismes est de l'hétéroauxine. Elle a été isolée à l'état pur et cristallisée de la levure par KÖGL et KOSTERMANS (1934) et des cultures de *Rhizopus suinus* par THIMANN (1935).

A. E. par mmg.

Urine de feminae enceinte :

Moyenne de 15 cas pris à des mois différents de

la grossesse 1.350

Urine de cheval :

Etalon 2.000

Jument gravide 1.800 à 7.000

Urine de vache 65 à 240

Urine de truie 50 à 180

1. — A PARTIR DE L'URINE DE FEMME ENCEINTE

Dans un premier travail d'extraction, KÖGL et ses collaborateurs (1933 *a*) utilisèrent l'urine de femme enceinte. D'une quantité de 200 litres, il obtint deux produits cristallisés : le premier pesant 18 milligrammes, fusible à 169°, se présentant sous la forme d'aiguilles incolores et possédant une activité de 23.10⁶ A. E. par milligramme; le second, légèrement plus actif — 30.10⁶ A. E. par milligramme — ne pesait que 6 milligrammes et son point de fusion était de 172°.

Deux autres fractions acides obtenues à partir de 600 litres d'urine lui donnèrent 22 mmg. 4 de cristallisé actif.

2. — A PARTIR DE L'URINE MÉLANGÉE

Par la suite, KÖGL (1933 *a*) adopta comme matière première d'extraction de l'urine mélangée provenant des hôpitaux d'Utrecht et qui contenait en moyenne 2 milligrammes de substance active par litre. Dès le début des expériences d'isolement, cet auteur remarqua que le meilleur système d'extraction consiste à travailler avec des quantités d'urine n'excédant pas 150 litres. Avec des volumes plus grands, d'environ 1.000 litres, les différentes opérations sont beaucoup plus longues. Il en résulte une réduction notable de la quantité d'auxine isolée, par suite d'un phénomène d'auto-inactivation. L'auto-inactivation, que nous étudierons dans les pages suivantes, intervient même lorsqu'il s'agit d'une quantité d'urine réduite et il n'est guère possible d'obtenir plus de 30 milligrammes de substance cristallisée d'un volume de 150 litres.

La même méthode d'extraction essayée sur 9 quantités d'urine ne fut couronnée de succès que pour les premier, deuxième et cinquième essais qui seuls aboutirent à la substance de croissance cristallisée ⁽¹⁾. Dans les autres cas, KÖGL et ses collaborateurs n'obtinrent que des huiles, qui se montrèrent pourtant hautement actives après distillation dans le vide poussé.

3. — TECHNIQUE D'ISOLEMENT

La technique d'isolement employée pour l'urine de femme enceinte comme pour l'urine mélangée est la suivante. L'urine acidifiée par l'acide chlorhydrique est concentrée dans un appareil spécial ⁽²⁾ d'une capacité d'environ 30 litres. On arrive ainsi à un sirop épais de couleur brun foncé dont le poids total n'excède pas 5.700 grammes. Après dissolution de ce liquide dans 25 à 30 litres d'eau, le mélange est rendu nettement acide par adjonction d'une nouvelle quantité d'acide chlorhydrique. Le principe actif est ensuite extrait à plusieurs reprises par l'éther. Les extraits étherés sont recueillis et évaporés sur du sulfate de sodium. On obtient finalement un résidu pesant 87 grammes qui renferme presque la totalité de la substance de croissance contenue dans les 150 litres d'urine. Le résidu est à nouveau dissous dans l'éther et la solution obtenue est fractionnée par le bicarbonate de soude. La substance active passe dans la fraction acide. L'isolement se poursuit en utilisant la solubilité du principe actif dans divers solvants : éther, alcool, son insolubilité dans l'éther de pétrole et la ligroïne, ainsi que deux fractionnements, l'un par les sels de plomb, l'autre par les sels de calcium. On arrive finalement à un sirop brun rouge clair qui est chauffé pendant une heure avec 10 à 15 centimètres cubes d'alcool méthylique chlorhydrique à 1,5 o/o. Cette étape importante de l'extraction n'est pas une estérification mais une lactonisation qui rend les huiles brutes distillables dans le vide. On évapore l'alcool et on reprend par l'éther. Un nouveau fractionnement est réalisé à l'aide d'une solution de bicarbonate à 2 o/o. La fraction acide est éliminée. La substance de croissance reste dans la

(1) La difficulté d'aboutir à une cristallisation complète de l'auxine et de sa lactone serait due, d'après KÖGL, à la présence dans ces urines d'une quantité anormale d'acide indol-3-acétique.

(2) Appareil de SCHMALFUSS-JANSEN.

fraction neutre. Le résidu éthéré, qui pèse 1 gr. 2, représente un enrichissement 2.500 fois plus grand.

Le sirop enrichi (huiles brutes) est distillé aussi lentement que possible sous le vide poussé (0,005-0,02 mm. Hg). Une première fraction qui passe à la température de 125°, quoique très active (2.900.000 A. E./gr.), ne fournit pas de cristaux. Mais la fraction moyenne qui distille entre 125° et 135° — environ 179 milligrammes — contient la partie la plus importante de l'hormone de croissance extraite. Son efficacité moyenne est de 9.200.000 A. E./mgr. ce qui représente un enrichissement de l'activité initiale de 5.000 fois environ. Conservée à la glacière pendant quelques jours, elle cristallise partiellement. Le phénomène est encore plus intense si elle est portée dans un mélange réfrigérant (acétone et acide carbonique). Enfin, entre 135° et 150°, distillent des fractions hautement actives (120.000 à 23.700.000 A.E./mgr.) lesquelles sont susceptibles de cristalliser partiellement. La partie sirupeuse de ces fractions est éliminée. La purification des cristaux bruts — environ 38 mgr. 7 — dont l'activité est voisine de 21.000.000 A. E./mgr. s'opère par cristallisations successives où l'on emploie comme solvants soit un mélange de ligroïne et d'alcool éthylique, soit de l'acétone aqueux à 40 o/o. Ces cristallisations répétées conduisent à l'obtention de deux substances cristallisées : l'une fusible à 196°, l'autre à 172°-173°. La première est l'acide actif ou auxine *a*, la deuxième est sa lactone. Toutes les deux ont une activité prodigieuse qui varie entre 20 et 90 milliards (A. E.) au gramme. L'activité moyenne admise est de 50 milliards A. E./gr.

*c) Isolement des auxines a et b à partir
de sources végétales.*

Le succès qui couronna l'extraction de l'auxine *a* et de sa lactone à partir de l'urine humaine conduisit F. KÖGL, H. ERXLEBEN et A. J. HAAGEN-SMIT (1934) à tenter l'isolement du principe actif contenu dans certaines huiles végétales.

Dans des expériences, dites de régime, que nous examinerons plus en détails au cours de la III^e Partie de ce mémoire, HAAGEN-SMIT put prouver l'existence d'esters d'auxine dans plusieurs graines et dans leurs huiles. En particulier, il mit en évidence des produits actifs, à l'état combiné dans les huiles d'arachide, de moutarde et

de lin, et put constater que l'huile de maïs brute est richement pourvue en auxine libre : la quantité trouvée dans ce dernier milieu est 8 fois plus grande que celle que l'on obtient par saponification de la même masse d'huile d'arachide ou de graines diverses. En traitant un litre d'huile de maïs brute par l'eau, dans des essais préliminaires, KÖGL et ses collaborateurs obtinrent 600 à 700 γ de substances actives.

La technique suivie pour l'obtention de l'hormone à l'état pur, à partir de l'huile de maïs, est à peu près identique à celle qui a été utilisée pour l'urine. Après séparation par le bicarbonate de soude, on arrive à une fraction acide qui contient, d'après un examen biologique, 13 milligrammes de substance de croissance au gramme. Après un traitement par l'éther de pétrole et un autre par la ligroïne, on peut entreprendre immédiatement les précipitations plombique et calcique. Le fractionnement par le benzol s'avère inutile car les enrichissements sont particulièrement faciles. Mais au cours de la lactonisation l'activité de la fraction lactone diminue de 50 o/o, alors que les huiles actives obtenues à partir de l'urine ne subissent pas de perte sensible pendant cette opération.

Enfin les huiles brutes actives sont distillées à deux reprises sous le vide poussé (0,01 mm. Hg) et les fractions les plus actives passent vers 115°-120°, c'est-à-dire à une température beaucoup plus basse que les fractions correspondantes de l'urine.

La cristallisation, plus difficile et plus lente que dans l'extraction précédente, s'effectue néanmoins d'une façon satisfaisante lorsque les huiles sont placées dans un mélange réfrigérant (CO_2 + éther).

Malgré ces difficultés, les expérimentateurs obtinrent non seulement l'auxine fusible à 196°, identique à celle de l'urine (auxine *a*), mais, de la fraction bouillant le plus bas, un deuxième acide cristallisé, fusible à 183°, qu'ils appelèrent auxine *b*. Celle-ci, isomère de l'auxine *a* lactone, est bien distincte de cette dernière car elle est de nature acide. Son activité est également de 50 milliards A. E./gr. Partis de 16 kilogrammes d'huile de maïs, les chimistes hollandais réalisèrent, après un enrichissement de 300.000 fois environ, 15 milligrammes d'auxine *a* et 15 milligrammes d'auxine *b*.

Une méthode similaire d'extraction leur permit en outre d'opérer sur le malt et l'huile de germe de blé. Ils ont réussi à isoler de 160 kilogrammes de malt et seulement après un enrichissement de

40.000 fois, 238 milligrammes d'auxine *b* cristallisée et 7 milligrammes d'auxine *a*.

Il y a une identité absolue entre les substances provenant de l'huile de maïs et celles extraites du malt. Elle est prouvée par la fixité des constantes physiques et de l'activité physiologique des produits purs obtenus après 6 cristallisations successives dans divers solvants.

B — Formules de constitution des auxines *a* et *b*.

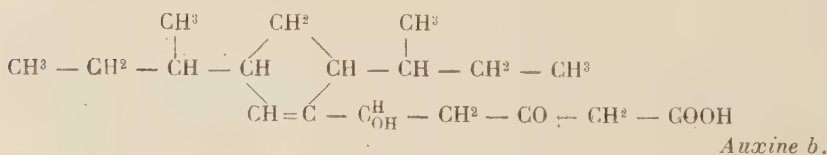
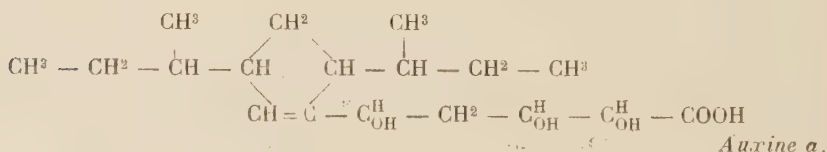
La constitution chimique des deux auxines a été élucidée par F. KÖGL et H. ERXLEBEN en 1934. Les expériences de dégradation ne furent entreprises que sur 380 milligrammes de substances cristallisées car la majeure partie des 800 milligrammes isolés, à la suite d'efforts qui se poursuivirent pendant trois ans et demi, avait été utilisée pour une étude des dérivés fonctionnels et pour diverses recherches physiologiques.

L'auxine *a*, de formule brute $C^{18}H^{32}O^3$, contient un groupement carboxyle, 3 hydroxyles alcooliques, une double liaison et un cycle carboné. C'est un triol monoacide.

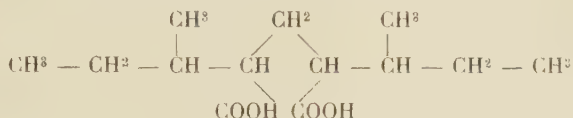
L'auxine *b*, de formule : $C^{18}H^{30}O^4$, a ses 4 atomes d'oxygène engagés de la manière suivante : 2 font partie d'un groupement carboxyle, le 3^e appartient à un hydroxyle alcoolique et le dernier s'incorpore à une fonction cétone. L'auxine *b* possède, comme l'auxine *a*, une double liaison et un cycle carboné. C'est un monoacide monoxhybrilé en 2 par rapport au carboxyle.

Les solutions des deux auxines présentent le phénomène de mutarotation.

Leurs structures sont données avec certitude, au moins dans leurs traits essentiels, par les formules développées suivantes :



Les résultats analytiques qui ont permis d'aboutir à ces formules ont été en partie contrôlés par des travaux synthétiques. La synthèse de « l'acide auxine glutarique » ou acide di-isobutyl 2-4, réalisée par KÖGL et ERXLEBEN (1935) apporte en effet une preuve de la constitution définitive pour la position d'au moins 11 atomes de carbone de la molécule des deux auxines.



C. — Propriétés physiques de l'auxine *a* et de sa lactone.

Par cristallisation à partir d'une solution dans l'alcool éthylique et la ligroïne en quantités égales, l'auxine *a* se présente sous la forme de cristaux hexagonaux et incolores de P. F. 195°. L'auxine *a* lactone cristallisée s'obtient d'une solution d'acétone aqueux à 50 o/o sous forme d'aiguilles fondant à 183° et qui se réunissent en faisceaux plus grossiers.

L'auxine *a* cristallisée est facilement soluble à froid dans divers solvants : méthanol, éthanol et éther acétique. Sa solubilité dans l'eau est moindre, elle n'est que de 1 o/o à froid. Elle est insoluble, ou presque, dans l'éther de pétrole, la ligroïne et le benzol; aussi emploie-t-on ces différents liquides, dans la technique d'isolement, pour l'élimination des substances accompagnantes.

Les cristaux d'auxine *a* lactone sont encore plus solubles dans le méthanol, l'éthanol, l'éther acétique, l'acétone et le chloroforme que ceux d'auxine *a*. Leur solubilité dans l'eau est un peu plus faible que dans les solvants précédents. L'auxine *a* lactone est également insoluble dans l'éther de pétrole, la ligroïne et le benzol.

En solution aqueuse, l'auxine *a* est inactive sur la lumière polarisée. L'absence de rotation optique peut s'expliquer par la faible solubilité des cristaux actifs dans l'eau. Par contre, en solution alcoolique (alcool éthylique à 96 o/o), elle possède une faible rotation à gauche qui atteint au bout de deux heures, une valeur finale constante $[\alpha]_D^{20} = -3^{\circ}19$. L'auxine *a*, en solution alcoolique, ne présente pas de bande d'absorption caractéristique pour l'ultra-violet. L'absorption ne commence qu'au-dessous de 245 mμ.

D. — Identification des auxines *a* et *b*.

Enfin, nous signalerons que les auxines *a* et *b* réagissent différemment en présence des acides. Tandis que l'auxine *a* apparaît comme très stable en solution acide, l'auxine *b* ne tarde pas à devenir inactive. L'une et l'autre sont détruites par les solutions alcalines chaudes. Ce comportement opposé vis-à-vis des acides permet non seulement d'identifier les auxines *a* et *b* dans les recherches expérimentales, mais aussi de les distinguer de l'hétéroauxine (acide indol-3-acétique) qui, comme nous le verrons plus loin, en tant que dérivé de l'indol, reste indifférente aux solutions alcalines chaudes mais est détruite par les liqueurs acides.

E. — Rapports entre l'activité physiologique et la structure moléculaire.

Tandis que les auxines *a* et *b* possèdent, comme excitants de l'élongation cellulaire, une activité considérable qui est dans le test de F. W. WENT de 50 milliards A. E./gr., leur dérivés sont au contraire totalement inefficaces. L'expérience montre en effet que la dihydroauxine et l'ester méthylique de l'auxine *a* sont inactifs vis-à-vis du même test. Ainsi l'hydrogénation et l'estérification qui conduisent à un produit physiologiquement neutre témoignent qu'un changement, même faible, dans la structure moléculaire des auxines se traduit par une inactivation totale. Les relations entre l'activité et la constitution sont encore plus évidentes lorsqu'on sait que les auxines *a* et *b*, à l'état cristallisé aussi bien que sous la forme d'extraits bruts, subissent une inactivation spontanée qui se manifeste au bout de un ou deux mois. Les cristaux d'auxine purs, conservés dans le vide et à l'abri de la lumière en ampoules scellées, ont le même sort. Ce dernier fait prouve que l'inactivation observée n'est pas imputable à une oxydation.

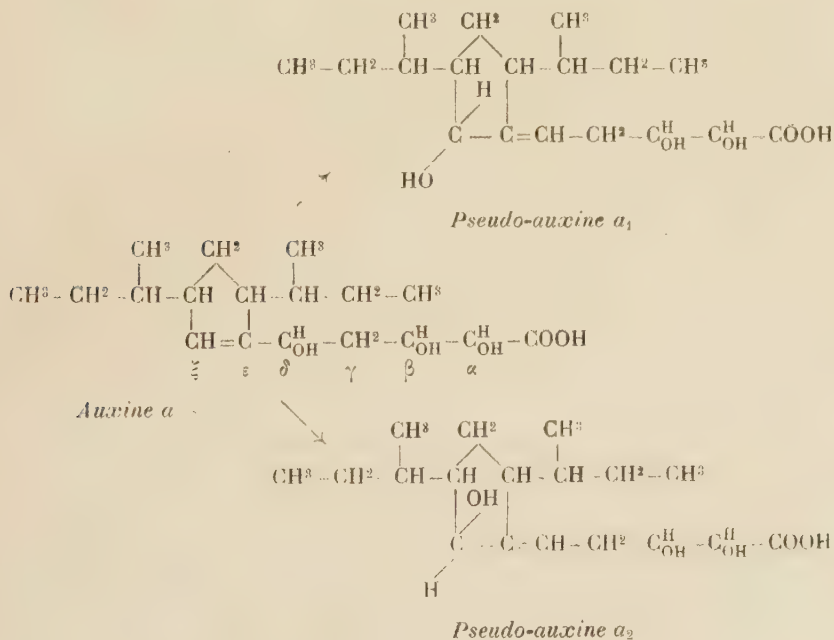
F. KÖGL, H. ERXLEBEN et C. KONINGSBERGER (1936) ont montré expérimentalement que l'auto-inactivation de l'auxine *a* correspond à un mélange de deux substances qu'ils ont désignées sous le nom de pseudo-auxines a_1 et a_2 . Celles-ci possèdent encore la liaison éthylénique et le groupe carboxyle de la matière active mais ne présentent plus le phénomène de mutarotation qui se traduit par la for-

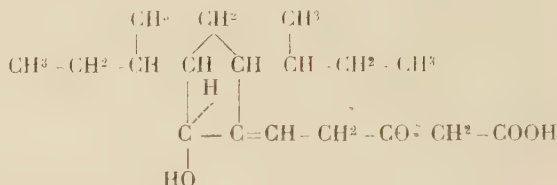
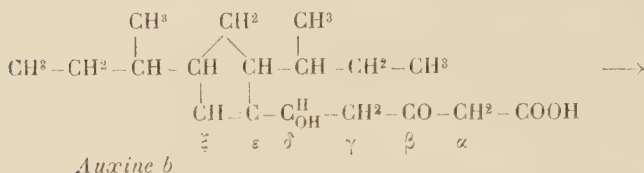
mation d'une lactone, dans les solutions alcooliques d'auxines *a* et *b*.

Les mêmes auteurs (1933) avaient admis que l'inactivation était due à la migration de la double liaison. Aussi KÖGL (1936) fut-il extrêmement surpris de constater que l'oxydation permanganique pratiquée sur les pseudo-auxines aboutit à « l'acide auxine glutarique » comme pour les auxines *a* et *b*. Le résultat de cette décomposition implique que la partie de la molécule des deux auxines qui correspond à la structure de l'acide apparu est intégralement conservée au cours de l'inactivation.

L'auxine *b* devient, elle aussi, inactive en se transformant en une pseudo-auxine *b*. Puisqu'elle ne diffère de l'auxine *a* que par la chaîne latérale en C³, et seulement dans la nature des substituants des atomes α et β , il ne reste plus, comme partie moléculaire commune pour la transformation en pseudo-série, que celle qui est comprise entre les atomes C ^{γ} et C ^{ξ} . L'absence de mutarotation, qui indique une modification de l'atome de C en δ , a amené KÖGL à concevoir l'auto-inactivation comme une transposition allylique. Malheureusement, on ne connaît pas en chimie d'exemple de ce mode de réaction libre et unilatéral.

Les formules suivantes résument cette discussion.



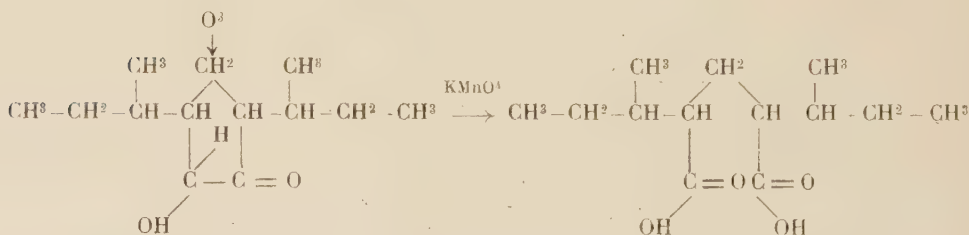
*Pseudo auxine b.*

Cette hypothèse permet d'expliquer, outre l'absence de mutarotation dans les pseudo-auxines :

1° La formation, à partir de l'auxine *a*, de deux substances isomères inactives physiologiquement : les pseudo-auxines *a*₁ et *a*₂, différant l'une de l'autre par l'existence d'un atome de carbone asymétrique.

2° La constance des spectres d'absorption aux ultra-violet qui demeurent sans changement au cours de l'inactivation.

On constate également que l'acyloïne, qui résulte de la dégradation de la pseudo-auxine *a*₁ par l'ozone, est pourvue de la liaison éthylénique en position semi-cyclique. L'acyloïne oxydée par le permanganate de potassium se transforme aussi en « acide auxine glutarique ».

Pseudo-auxine a₁.*Acyloïne.*

La lactone d'auxine *a* cristallisée perd aussi son activité en quelques mois. Mais, tandis que l'auto-inactivation des auxines *a* et *b* ne paraît pas être influencée par les rayons lumineux, la lactone

d'auxine se montre sensible. En peu de secondes, elle est convertie par les ultra-violets en une substance inerte, la lumi-auxine- α -lactone » de KÖGL. Il se peut que des sensibilisateurs agissent au cours de cette photo-inactivation. Malgré que le problème ne soit qu'ébauché, il semble que la double liaison prend également ici une position semi-cyclique. Cette hypothèse est basée sur le fait que la dégradation de la lumi-auxine- α -lactone par l'ozone conduit à une cétone cyclique de formule $C^{13}H^{24}O$, qui est identique à celle obtenue en traitant la dihydro-auxine α par l'anhydride chromique. Les analyses montrent encore qu'une molécule d'eau est éliminée dans la formation de la lumi-auxine- α -lactone.

A titre d'hypothèse de travail, KÖGL suggère que la lumi-auxine- α -lactone pourrait se former dans la plante sous l'influence de la lumière. Ainsi beaucoup de phénomènes physiologiques décrits chez la plante seraient susceptibles d'une interprétation nouvelle.

II. — L'hétéroauxine.

L'hétéroauxine, acide indol-3-acétique ou acide β -indolyl-acétique, a pour formule : $C^{10}H^9O^2N$.

Cet acide a été isolé de certaines fermentations dès 1885 par E. et H. SALKOWSKI et trouvé dans l'urine par ces mêmes auteurs. Mais ce n'est qu'en 1908 que HERTER put l'isoler de ce dernier milieu. On admet que la plus grande partie de l'hétéroauxine urinaire se forme dans l'intestin par suite de la désintégration bactérienne du tryptophane. Toutes les urines semblent en contenir, mais certaines d'entre elles ont une teneur particulièrement élevée (¹). L'existence de l'hétéroauxine dans les plantes supérieures, où elle a été reconnue par J. LEFÈVRE (1938-1939), pourrait expliquer également sa présence dans l'urine de l'homme et des mammifères.

L'acide β -indolylacétique peut aussi se former dans des solutions de tryptophane exposées en ballon de quartz, soit à la lumière du jour, soit au rayonnement ultra-violet d'une lampe Mazdasol de

(¹) KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN (1934) ont observé le cas d'un jeune homme de 18 ans (E. W. V.) qui éliminait quotidiennement 8 à 10 milligrammes de substances actives représentées par 75 o/o d'acide indol-3-acétique.

60 watts (BERTHELOT et AMOUREUX, 1938 b). Il apparaît comme probable que c'est le rayonnement ultra-violet de longueur d'onde inférieure à 2.900 Å qui intervient dans cette transformation.

a) Obtention de l'hétéroauxine urinaire à l'état pur et cristallisé ; son identification à l'acide indol-3-acétique.

Avant la découverte de l'hétéroauxine, KÖGL et ses collaborateurs considéraient le test avoine comme strictement spécifique des matières du type auxines *a* et *b*, car l'action physiologique de ces dernières disparaît pour de petits changements dans leur molécule. Aussi leur étonnement fut grand lorsque, au cours de perfectionnements apportés à la technique d'extraction des auxines *a* et *b*, ils trouvèrent dans l'urine une troisième substance très active. Ils constatèrent qu'une grande quantité, les 2/3 environ, du corps actif présent dans l'urine, était adsorbable par le noir animal. L'élution de celui-ci facilement réalisée par l'acétone aqueuse ammoniacale à 5 o/o rendait inutile la concentration longue et pénible de plusieurs centaines de litres d'urine. Mais il apparut bien vite que la majeure partie de la substance active trouvée dans le noir animal était éliminée partiellement au cours des méthodes de purification puis détruite par le traitement à l'alcool méthylique chlorhydrique employé dans le procédé d'extraction primitif.

En effet, contrairement à ce qui avait été observé jusque-là, la précipitation plombique n'aboutissait qu'à un faible enrichissement. Aussi KÖGL et ses collaborateurs intercalèrent-ils dans leur technique initiale d'extraction deux nouvelles phases de purification. Après le traitement habituel par la ligroïne, qui enlève les matières accompagnantes inactives, ils soumièrent l'huile brute à un épuisement par le xylol. Dans cette opération, pratiquée à plusieurs reprises et à la température du bain-marie, le solvant entraîne presque en totalité l'hormone de croissance. Après une seconde purification par le cyclo-hexane au cours de laquelle la substance active subiste dans la partie insoluble, ils ajoutèrent comme dans la méthode primitive, deux précipitation plombique et calcique. Le produit hormonal passe dans les filtrats. Mais les huiles brutes, quoique hautement actives, ne pouvaient être soumises à l'opération de lactonisation, qui les rend distillables, qu'en subissant une perte anormale d'activité. C'est pourquoi F. KÖGL et ses collabora-

teurs (1934 a) abandonnèrent le traitement par l'alcool méthylique chlorhydrique et essayèrent d'arriver directement au corps de croissance par une autre précipitation de sel. Une précipitation barytique les conduisit à un filtrat qui cédait, après décomposition, un sirop cristallisant partiellement après un séjour de 48 heures à la glacière. Le produit obtenu fondant à 165° après recristallisation était donc différent de l'auxine dont le point de fusion est 196° et de sa lactone qui fond à 173°. Il fut démontré que c'était un acide azoté ne présentant pas le phénomène de mutarotation, très actif sur l'élongation des végétaux et dont l'activité était de 25 milliards A. E. gr. Ses propriétés ainsi que diverses réactions colorées permirent de l'identifier à l'acide indol-3-acétique. L'idée d'une impureté rendant le produit actif fut écartée par le fait que l'acide synthétique a la même action physiologique.

b) *Extraction de l'hétéroauxine à partir des sources végétales.*

La présence de l'hétéroauxine ayant été établie par plusieurs auteurs dans différentes cultures de champignons, son extraction fut tentée, à peu près simultanément, par KÖGL et KOSTERMANS (1934) et THIMANN (1935). Les premiers isolèrent de la levure un produit de P. F. 164° à 165°, actif sur l'élongation cellulaire, qu'ils identifièrent, comme l'élément isolé par eux de l'urine, à l'acide indol-3-acétique. L'hétéroauxine, qui résulte d'après KÖGL de la dégradation du tryptophane, fut retrouvée par lui dans les cultures de *Rhizopus nigricans* et d'*Aspergillus niger*.

K. V. THIMANN part de cultures de *Rhizopus suinus* faites sur milieu peptoné et en aérobiose. Le schéma des opérations d'isolement est le suivant : évaporation dans le vide, acidification (pH 3), et extraction par l'éther. Le résidu éthéré est repris par l'eau et la solution aqueuse épuisée par le chloroforme (pH 4,8). La liqueur chloroformique est fractionnée par le bicarbonate de soude; la solution alcaline obtenue est acidifiée puis soumise à un nouvel épuisement par le chloroforme. Après évaporation, le résidu est soumis à l'action de divers solvants : éther de pétrole bouillant, ligroïne froide, qui le débarrassent de ses impuretés. Enfin le résidu actif est distillé dans le vide. Les fractions qui passent de 95° à 110° sont épuisées par CCl_4 à 0°; après dissolution dans CH_3O , le résidu est traité par une solution méthylique de brucine à — 30°.

Cette opération aboutit à un précipité actif qui perd rapidement son activité et à un filtrat actif aussi. Ce dernier est débarrassé de la brucine par CCl_4 , purifié par lavage à l'éther de pétrole, et finalement soumis à la distillation dans le vide. Les fractions actives passent de 85° à 95° et de 95° à 102° . Les cristallisations opérées dans l'acétone donnent des plaques fusibles à 160° . Celles-ci, par plusieurs caractères : leur température de fusion déjà mentionnée, leur activité, leur sensibilité vis-à-vis des acides dilués et diverses réactions colorées, s'identifient avec l'acide indol-3-acétique. THIMANN admet en outre que cette *hétéroauxine* provient de la dégradation oxydative du tryptophane.

Actuellement on obtient l'acide indol-3-acétique par synthèse. Les différents procédés connus sont d'un rendement faible ce qui explique le prix relativement élevé de cet acide.

c) *Propriétés physiques.*

L'acide indol-3-acétique, ou *hétéroauxine*, se présente sous la forme d'un produit cristallisé en paillettes blanches ou légèrement crème, qui, exposées à l'air et à la lumière, prennent assez rapidement une teinte rose. Ses cristaux fondent à 167° . En se décomposant, ils libèrent du CO_2 et forment un peu de scatol. L'acide indol-3-acétique est facilement soluble dans l'alcool méthylique, dans l'alcool éthylique ainsi que dans l'éther et l'acétone. Sa solubilité, minime dans l'eau froide, augmente un peu dans l'eau chaude. Il est également peu soluble dans le benzène et le chloroforme. L'hétéroauxine en solution se détruit au bout d'un temps plus ou moins long. Les solutions doivent être maintenues à l'obscurité et à la glacière. JOST et REISS (1936) les font bouillir après chaque emploi.

d) *Propriétés chimiques.*

Comme tous les dérivés de l'indol, l'hétéroauxine est très sensible aux acides chauds mais absolument stable à l'ébullition avec une lessive alcoolique.

Elle possède diverses réactions colorées caractéristiques. Les plus employées sont les suivantes :

Lorsqu'on chauffe une trace d'acide indol-3-acétique avec une goutte de solution de chlorure ferrique et un peu d'acide

chlorhydrique dilué, on obtient une coloration rouge vineuse.

Avec ClH et KNO_3 , on observe la production d'une coloration rose passant complètement dans l'alcool amylique et donnant une bande d'absorption dans le vert.

D'autre part, en chauffant l'acide indol-3-acétique prudemment avec de l'acide sulfurique, le liquide prend une coloration pourpre foncée.

Enfin chauffé à sec vers 200° , l'acide indol-3-acétique se convertit en scatol lequel est facile à mettre en évidence.

Une méthode de détermination quantitative de l'acide indol-3-acétique par colorimétrie a été mise au point par S. WINKLER et S. PETERSEN (1935). C'est une réaction voisine de celle du tryptophane d'ADAMKIEWICZ-HOPKINS. Il donne, en présence de sulfate de cuivre avec l'acide glyoxylique et l'acide sulfurique concentré, une coloration rouge violet intense.

e) *Relations entre l'activité physiologique
et la constitution moléculaire.*

Des rapports entre l'activité physiologique et la constitution ont été mentionnés précédemment pour les auxines *a* et *b*. Nous avons vu que l'hydrogénation et l'estérification de l'auxine *a* conduisent à un produit inactif et que les cristaux d'auxines *a* et *b*, conservés en tube scellé à l'abri de l'air et de la lumière sont frappés d'inactivation au bout de quelques mois. Mais jusqu'ici aucun dérivé synthétique de ces substances n'a pu être obtenu.

La découverte de l'hétéroauxine a permis une étude plus complète de la question. Grâce à une synthèse facile, KÖGL et KOSTERMANS ont pu préparer un très grand nombre de dérivés de l'acide indol-3-acétique dont ils ont déterminé l'activité physiologique par la méthode du coléoptile d'avoine. Ils ont considéré comme inactives les substances dont l'influence ne dépasse pas 0,04 o/o de celle de l'hétéroauxine. Les recherches ainsi entreprises pour montrer le rôle des différentes parties de la molécule dans l'action physiologique ont abouti aux résultats suivants.

1. — SIGNIFICATION DU GROUPE CARBOXYLE

Pour mettre en évidence l'importance du groupe carboxyle, KÖGL et KOSTERMANS (1935) ont réalisé une série d'esters. Ils ont constaté que l'estérification de la fonction acide ne fait pas dispa-

raître entièrement l'activité, mais que celle-ci décroît au fur et à mesure que le radical estérifié augmente. Les esters obtenus et leur activité sont indiqués dans le tableau suivant :

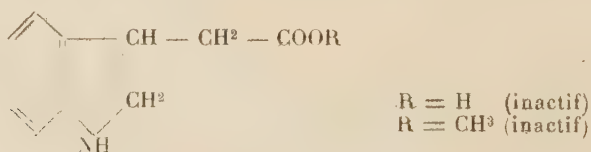
	C — CH ² — COOR	I — R = H	25.10 ⁹ AE/g
		II — R = — CH ³	1.10 ¹⁰
		III — R = — CH ² — CH ³	3.10 ⁹
		IV — R = — CH ² — CH ² — CH ³	1.10 ⁹
		V — R = — CH< $\begin{matrix} \text{CH}^3 \\ \text{CH}^3 \end{matrix}$	1.10 ⁸

La faible activité des termes supérieurs de cette série conduit à se demander si les esters de l'hétéroauxine ont une action directe sur la croissance des coléoptiles ou bien si leur effet ne serait pas la conséquence d'une saponification partielle qu'ils subiraient dans la plante. Cette dernière hypothèse, que l'on admet aujourd'hui comme vraisemblable, ne permet pas cependant d'expliquer l'inactivité totale de l'ester méthylique de l'auxine *a*, alors que l'ester correspondant de l'hétéroauxine possède une activité très grande de 10 milliards A. E./gr. Une telle différence de comportement est d'autant plus surprenante que le carboxyle représente le seul groupement chimique commun aux deux molécules et que les deux acides sont également forts puisque leurs constantes de dissociation, déterminées par KÖGL et KOSTERMANS (1935) : $K = 1.10^{-5}$ pour l'auxine, $K = 2.10^{-5}$ pour l'hétéroauxine, sont du même ordre de grandeur.

2. — INFLUENCE DE LA DOUBLE LIAISON

L'existence de la liaison éthylnique apparaît comme un facteur essentiel de l'activité. On l'a constaté d'abord, comme nous l'avons vu, pour les auxines *a* et *b* qui sont rendues inactives par l'hydrogénation sélective.

Pour l'hétéroauxine, les faits observés sont les mêmes. Par hydrogénation de l'ester méthylique de l'hétéroauxine, on obtient l'ester méthylique de l'acide dihydro-2-3-indol-3-acétique qui, après purification complète, se montre totalement inactif. L'acide dihydro-2-3-indol-3-acétique obtenu par saponification de l'ester est également dépourvu d'activité dans le test avoine.



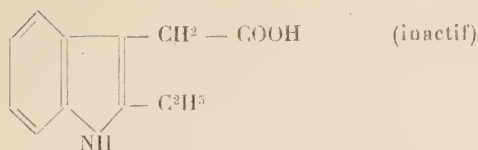
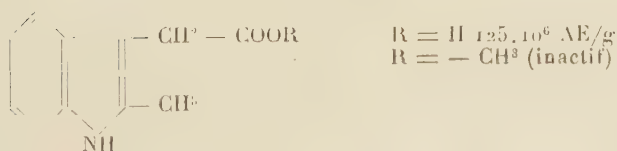
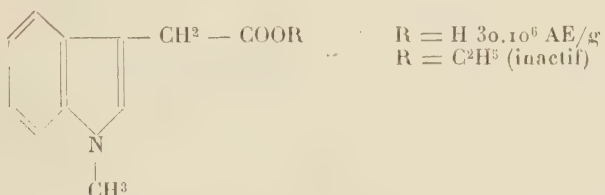
3. — ACTIVITÉ DES HOMOLOGUES NUCLÉAIRES

Parmi les homologues nucléaires de l'hétéroauxine beaucoup sont actifs mais leur activité est toujours inférieure à celle du corps fondamental.

La *méthylation* de l'hétéroauxine à l'azote conduit à l'acide méthyl-1-indol-3-acétique qui possède une activité de 30 millions A. E./gr. L'ester correspondant est inactif, c'est seulement après saponification qu'apparaît l'activité physiologique indiquée pour l'acide.

L'homologue le plus voisin, très facile à obtenir, est l'acide méthyl-2-indol-3-acétique ; son activité est de 125 millions A. E./gr. L'ester méthylique de cet acide est également inactif.

L'introduction d'un radical *éthyle* en position α fait disparaître toute activité.



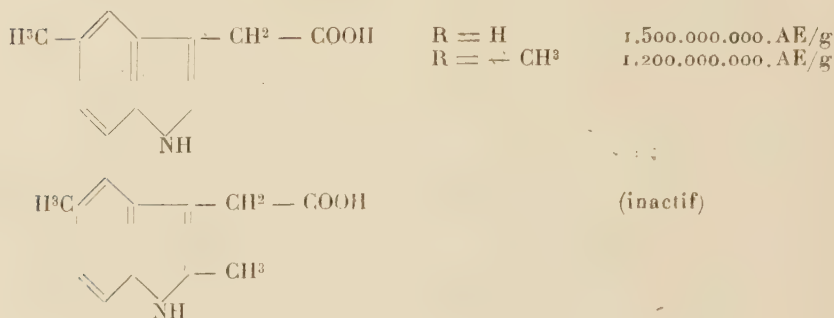
Ces diverses opérations montrent que l'activité physiologique est très fortement diminuée ou complètement détruite par les substitutions faites dans le noyau pyrrole. Les modifications chimiques portant sur le noyau benzénique sont en général beaucoup moins brutales.

En effet la *méthylation* dans la position 5 conduit à l'acide

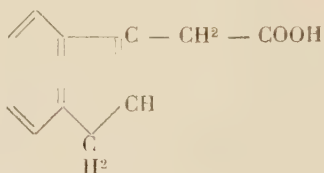
Henri Berrier.

méthyl-5-indol-3-acétique qui possède une forte activité de 1.500.000.000 A. E./gr. Son *ester méthylique* a une activité également grande : 1.200.000.900 A. E./gr.

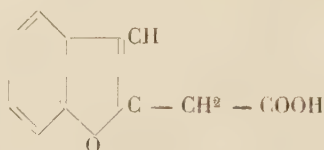
Enfin la *diméthylation* en 2 et 5 supprime toute activité.



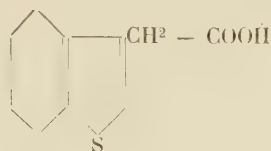
Des variations dans le noyau lui-même n'aboutissent pas à une inactivation totale. Nous avons vu précédemment (chapitre II) que THIMANN attribue une activité modérée sur l'avoine à l'acide indène-3-acétique qui contient un atome de C au lieu de l'atome N de l'indole.



Par contre l'acide coumarone- α -acétique, qui contient un atome d'oxygène au lieu de l'atome d'azote, est inactif sur le même test.



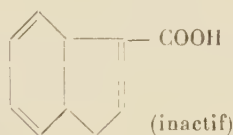
Enfin CROOK, DAVIES et SMITH (1937) ont obtenu synthétiquement l'acide thionaphène- β -acétique. Mais cette substance de P. F. 109° est infiniment moins active que l'hétéroauxine.



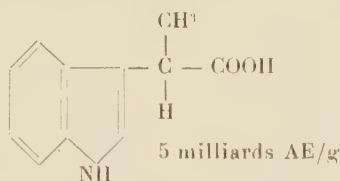
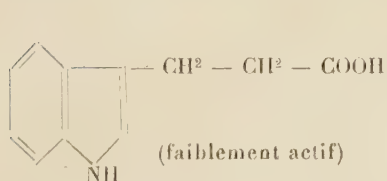
Un isomère de P. F. 141° pour lequel la position de la chaîne acétique n'est pas encore connue est sans effet sur le test avoine.

4. — IMPORTANCE DE LA CHAÎNE LATÉRALE

Les variations dans les chaînes latérales montrent que les *acides* α et β -indolcarboniques sont inactifs. Il en est de même pour l'acide indol-3-propionique.



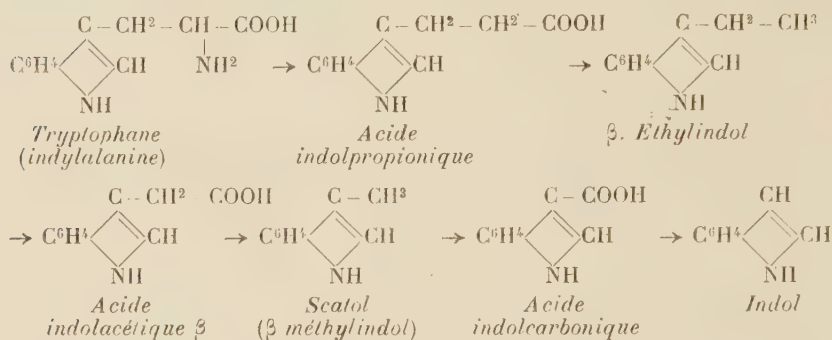
Par contre l'acide $\alpha\beta'$ -indolylpropionique a une activité de 5 milliards AE/g. La comparaison avec son isomère, l'acide β -indolylpropionique, montre que, pour l'activité physiologique, l'écart entre le carboxyle et le noyau pyrrole est très frappant.



g) *Activité physiologique des produits de dégradation biologique du tryptophane.*

Le *tryptophane* commercial (*indol-3-alanine*) a une activité auxinique négligeable, qu'il perd par recristallisation et que l'on peut, par conséquent, attribuer aux impuretés. De même, le racémate obtenu synthétiquement est inactif. Mais le tryptophane est intéressant à un autre point de vue. Il représente, sans aucun doute, la substance mère de l'hétéroauxine trouvée dans les microorganismes

végétaux et dans l'urine. C'est à ses dépens que se forment dans l'organisme l'hétéroauxine, l'indol, l'indoxyle et le scatol, par des processus où la décarboxylation et la désamination oxydative entrent en jeu. Cette dégradation bactérienne peut être représentée par le schéma suivant, avec ou sans l'intermédiaire du β -éthylindol.



Parmi les produits intermédiaires de la destruction, l'acide indol-3-lactique est inactif sur le test avoine, tandis que l'acide indol-3-pyruvique possède une activité de 200 millions AE/g. A vrai dire, il n'est pas lui-même physiologiquement actif, mais il est soumis dans le coléoptile d'avoine, pendant la réaction test de deux heures environ, à une destruction oxydative partielle qui le rend un peu actif. Ce point de vue est soutenu par l'observation de THIMANN (1935) qui a montré que lorsque des cultures de *Rhizopus suinus* se développaient en milieux contenant du tryptophane, il y avait un parallélisme entre l'apport d'air et la quantité d'hétéroauxine formée.

Les autres produits, indol et scatol, sont inactifs. C'est par erreur que GLOWER (1936) a attribué à ce dernier corps une légère efficacité.

Résumé.

Il résulte de ces notions que l'activité physiologique de l'hétéroauxine ou acide β -indolylacétique, comme celle d'ailleurs des auxines *a* et *b*, est liée d'une manière très spécifique à la constitution de la molécule. Cependant il n'est pas encore possible de fixer la partie commune agissante de toutes ces substances.

On a pu néanmoins rapporter l'activité des *auxines a* et *b* à la présence d'un cycle carboné de 5 atomes de carbone et d'une double liaison, et aussi à l'existence d'un groupe carboxyle libre.

Pour l'*hétéroauxine*, l'effet de croissance peut être rattaché à l'existence de la double liaison, d'un noyau indol et du groupe carboxyle. Toutefois, ici, l'estérification de la fonction acide ne supprime pas entièrement le pouvoir activateur de croissance si l'ester formé est susceptible d'être saponifié rapidement. De plus, un écart déterminé entre le carboxyle et le noyau pyrrole apparaît comme un facteur important de l'activité. On a constaté également que la méthylation pratiquée à l'N sur le noyau pyrrole aboutit souvent à l'inactivation, tandis qu'effectuée sur le noyau benzénique elle se traduit en général par l'obtention de dérivés encore très actifs. Enfin, des variations dans le noyau n'aboutissent pas à la suppression totale de l'activité.

Des travaux récents de KOEFLI, THIMANN et WENT (1938) sur les rapports existant entre la structure chimique de divers corps et leur activité hormonale conduisent à admettre que celle-ci peut dépendre d'une configuration stérique donnée. Les acides trans-cinnamique, trans-*p*-méthyl-cinnamique sont en effet sans action alors que les acides cis-cinnamique, cis-*p*-méthyl-cinnamique sont actifs.

L'examen de certains produits possédant l'effet primaire de croissance (chapitre II, C) et de diverses substances qui seront étudiées dans le paragraphe suivant permet de constater dans leur formule la présence d'un noyau aromatique : naphtyl ou phényl ou bien l'association des deux. D'autre part, la détermination de l'activité des acides indol-3-propionique, indol-3-butyrique, etc., sur le test *Pisum*, indique que certains changements dans la molécule (longueur de la chaîne latérale acide, substitution dans le noyau), n'affectent que l'activité secondaire.

L'étude de la *dégradation bactérienne* du *tryptophane* montre que cette substance présente un grand intérêt : elle constitue le type d'un précurseur d'auxine dans le coléoptile, c'est-à-dire d'une substance qui, inactive en elle-même, est promptement convertie en une forme active par les tissus de la plante.

III. — *Autres substances chimiques efficaces.*

De même que l'*auxine* α , l'*acide* β -indolylacétique et divers composés provoquent la formation de racines sur les boutures. L'activité physiologique serait, dans ce test, moins liée à une constitution chimique précise que dans le test avoine. Les recherches entreprises à l'INSTITUT BOYCE THOMPSON par divers auteurs : HITCHCOCK (1935), ZIMMERMAN et WILCOXON (1935), CROCKER, HITCHCOCK et ZIMMERMAN (1935) ont montré qu'un grand nombre de substances sont à cet égard des facteurs de croissance. Outre l'*acide* β -indolylacétique, se révèlent comme actifs : les acides indolylpropionique, indolylbutyrique, phénylacrilique, phénylpropionique, phénylacétique, et α et β -naphtylacétique, acénaphtylacétique, fluorenacétique, anthracénacétique, α -nitronaphtylacétique (celui-ci, selon toute vraisemblance, n'agit que lorsque l'*acide* naphtylacétique est libéré par hydrolyse). De plus, ZIMMERMAN, HITCHCOCK et WILCOXON (1936) montrent que divers esters correspondant aux acides naphtylacétique, phénylacétique et indolylacétique sont aussi des éléments chimiques qui agissent dans le même sens.

Parmi tous ces corps, certains sont plus actifs que d'autres. Ainsi les acides naphtylacétique et β -indolylbutyrique déclenchent la formation de racines à des concentrations beaucoup plus faibles que l'*acide* β -indolylacétique. De plus, des différences sont constatées dans la réponse du test physiologique : sous l'influence de l'*acide* naphtylacétique, les racines poussent perpendiculairement vers le bas et se parent d'un revêtement pileux abondant alors que l'*acide* phénylacétique provoque l'apparition de racines à peu près nues et inclinées à 45° environ.

Divers gaz : CO, éthylène, acétylène et propylène sont, d'après HITCHCOCK (1935), capables de provoquer la formation de racines. De même MOLLIARD (1935) constate que de jeunes plantules de pois croissent plus rapidement quand elles sont maintenues dans une atmosphère chargée de 2 o/o de gaz carbonique. D'après cet

(¹) Un tableau très complet des substances chimiques se comportant comme facteurs de croissance avec leur activité respective sur différents tests, a été établi par F. W. WENT et K. V. THIMANN dans *Phytohormones* (Exp. biol. monogr. Macmillan, New York), p. 137-139.

auteur, l'anhydride carbonique agit seulement sur l'élongation des cellules mais n'influence pas la multiplication cellulaire.

Plus récemment, SNOW (1937) a montré que deux substances : l'anhydride benzoïque (C^6H^5CO)₂O et son produit d'oxydation, le peroxyde de benzoyle ($C^6H^5-CO-O-CO-C^6H^5$), stimulent la croissance au même titre que l'auxine. Une telle action favorisante a été constatée en appliquant ces corps sous forme de pâte à base de lanoline sur un côté de coléoptiles d'avoine décapités.

Enfin WEBSTER et ROBERTSON (1937) ont également étudié l'action des permanganates sur la croissance de diverses plantes (*Opuntia*, *Cactus*) et il résulte de leurs observations que la croissance est nettement accrue. Les permanganates seraient plus actifs que les sels manganeux.

La plupart de ces substances peuvent produire des courbures épinastiques mais un grand nombre d'entre elles se révèlent neutres, ou faiblement agissantes, sur le test_avoine de F. W. WENT. Elles forment tout au plus un groupe de matières actives assez voisin de celui des auxines.

KÖGL (1938) fait remarquer que l'activité de ces divers produits chimiques sur la croissance végétale rappelle de très près l'effet œstrogène que possèdent de nombreuses substances qui sont très éloignées par leur structure des hormones du groupe de l'œstrone et il conclut que la dénomination d'hormone ne doit pas être attribuée à des produits de cet ordre.

CHAPITRE IV

LES RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LES AUXINES CHEZ LES VÉGÉTAUX

1. — *L'hormone de croissance des plantes supérieures.*

a) *Sa présence générale.*

Les substances de croissance, actives sur le coléoptile d'avoine, sont rencontrées dans presque tous les organes des plantes supérieures. Nous avons vu (chapitre I^{er}, § *a* et *d*) que de nombreuses jeunes plantules les élaborent mais des recherches ultérieures ont prouvé que leur présence n'est pas réservée exclusivement aux tissus en croissance et qu'on les trouve aussi dans les fruits mûrs et les graines, dans les étamines et dans les pollinies d'orchidées tropicales (LAIBACH, 1932), dans divers grains de pollen (LAIBACH, 1933 *a*; AVERY, 1935), et même dans les peaux de pomme de terre.

La richesse des graines en substances actives a fait l'objet de diverses controverses.

KÖGL, ERXLEBEN et HAAGEN-SMIT (1934), opérant sur des graines d'*Hordeum*, et utilisant l'extraction aqueuse, ont trouvé une grande variation dans la teneur en auxine au cours de leur germination : d'abord faible au début, elle croît ensuite rapidement jusqu'au 5^e jour.

CHOLODNY (1935) apporte des conclusions à peu près identiques : il ne décèle pas d'auxine dans les graines d'avoine conservées en milieu sec, et il montre que l'hormone, qui apparaît rapidement dès que les semences sont soumises à l'humidité, diminue par la suite, généralement au bout de 48 heures. Pour lui, la production d'auxine s'effectue dans l'endosperme ⁽¹⁾ et non pas dans l'embryon qui, au contraire, l'absorbe.

(1) CHOLODNY proposa pour la substance élaborée par l'endosperme des graines des plantes herbacées le nom d'hormone de germination, ou *Blastanine*, mais l'usage de ce mot est inutile puisqu'il s'agit de l'auxine.

Mais une tout autre opinion est exprimée par LAIBACH et MEYER (1935), à la suite de leurs recherches sur les graines de *Zea mays* et d'*Helianthus* : les substances de croissance seraient abondantes dans les graines écossées et disparaîtraient d'une façon constante au cours de la germination.

Cependant, POHL (1935-1936), appliquant une technique différente que nous décrirons plus loin, montre que les graines d'avoine débarrassées de leur auxine ou de la substance mère de l'auxine, présentent à la germination une croissance extrêmement réduite. Il confirme aussi d'une manière indirecte les points de vue de CHOLODNY qui s'interprètent très bien à la faveur de nos connaissances actuelles sur la formation de l'hormone de croissance : celle-ci existerait dans les graines sous une forme inactive et c'est au cours des processus chimiques de la germination qu'elle serait activée. De petites quantités d'hormone pourraient être révélées suivant le degré d'hydratation des graines, et cela expliquerait les résultats quelque peu variables de KÖGL.

Les plantes ligneuses ont été étudiées d'abord par VAN DER WEIJ (1933 *b*) qui, par la méthode de diffusion, a obtenu l'auxine de jeunes feuilles d'*Eleagnus*. CZAJA (1934) extrait la substance active d'un grand nombre d'arbres et d'arbustes (*Populus*, *Salix*, *Quercus*, *Syringa*, *Pinus*, *Aesculus hippocastanum*, etc.). Plus récemment, W. ZIMMERMAN (1936) a examiné la production d'auxine par les bourgeons d'arbres et d'arbrisseaux. Ses conclusions concordent avec celles tirées par THIMANN et SKOOG de leur étude des bourgeons de plantes herbacées. Les points capitaux établis sont les suivants : la production est très grande dans le bourgeon terminal et la richesse des bourgeons latéraux va en diminuant de la pointe à la base du rameau. Des mesures précises ont permis à ZIMMERMAN d'affirmer qu'il existait une corrélation entre l'activité de la croissance d'un bourgeon axillaire et la quantité d'auxine présente. Il admet d'une manière générale que le développement des arbres dépend de la production d'auxine.

Un récent travail d'EVERY, BURKHOLDER et CREIGHTON (1937), sur la production et la distribution de l'auxine dans les pousses feuillées d'*Aesculus* et *Malus*, montre très bien que la teneur en auxine à partir de mars, époque à laquelle les bourgeons sont encore latents jusqu'en octobre, au moment de la chute des feuilles, varie de zéro

en mars (bourgeons dormants), à un maximum, au milieu de mai, quand le bourgeon est en pleine élongation.

Dans les racines, la concentration d'hormone, forte au sommet devient de plus en plus faible vers l'extrémité proximale (BOYSEN-JENSEN, 1933 ; THIMANN, 1934).

b) *Son identification avec l'auxine a.*

À la suite des travaux de KÖGL et de ses collaborateurs, qui aboutissent à l'isolement de trois substances : l'auxine *a* extraite de l'urine, les auxines *a* et *b* retirées de l'huile de maïs et du malt et enfin l'hétéroauxine obtenue surtout à partir de l'urine ⁽¹⁾, un nouveau problème se posa : celui de l'identité de l'hormone de croissance produite par le coléoptile d'avoine et, en général, par les plantes herbacées.

La question était d'autant plus délicate que les « facteurs de croissance » isolés possèdent les trois propriétés physiologiques caractéristiques des auxines : 1° ils excitent l'extension cellulaire ; 2° ils provoquent la formation de racines et 3° ils inhibent l'élongation de ces dernières. De plus, l'analyse directe de la substance active qui intervient dans l'allongement d'un coléoptile d'avoine ou d'une jeune tige en voie de croissance, ne pouvait être entreprise à cause des quantités extrêmement petites de matières élaborées.

Mais bien que, jusqu'ici, il n'ait été possible d'isoler à l'état pur d'une plantule le corps responsable de sa propre croissance, des méthodes indirectes font admettre, avec la plus grande certitude, que la substance de croissance émise par la pointe du coléoptile correspond à l'auxine *a*.

Déjà F. W. WENT (1928) avait déterminé le poids moléculaire de l'hormone émanant de la pointe du coléoptile par la mesure de son coefficient de diffusion. On sait, d'après les travaux de THOVERT et d'OHOLM (1909-1912), que la racine carrée du poids moléculaire (*M*) est une fonction du coefficient de diffusion (*D*). La formule empirique :

$$D.\sqrt{M} = C = 7,0$$

⁽¹⁾ L'hétéroauxine est obtenue aussi à partir de la levure (KÖGL et KOSTERMANN, 1934) et de cultures de *Rhizopus suinus* (K. V. THIMANN, 1935). Celle qui est vendue dans le commerce est fabriquée synthétiquement.

a permis à WENT d'attribuer à l'auxine du coléoptile une valeur voisine de 376.

Quelques années plus tard, KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN (1934) ont obtenu le nombre 346 pour poids moléculaire de l'auxine *a* pure et cristallisée en employant la même méthode. Les valeurs ainsi trouvées sont satisfaisantes puisque le poids moléculaire de l'auxine *a*, correspondant à la formule $C^{18}H^{33}O^5$, est 328.

Les recherches analogues de HEYN (1935) conduisent à admettre que dans la pointe régénérée du coléoptile il s'agit d'auxine *a*, et non d'hétéroauxine qui pourrait provenir de processus nécrobiotiques des cellules nourrissantes. Il conclut de même en ce qui concerne l'hormone de la racine de *Vicia faba*.

La même technique biologique a permis à KOSTERMANN (1935) d'attribuer à l'hormone de croissance produite par divers micro-organismes et les champignons les nombres suivants : *Aspergillus* (169), *Rhizopus* (176 et 190), *levures* (173). Toutes les valeurs trouvées approchent ainsi du nombre 175, valeur théorique du P. M. de l'hétéroauxine ou acide β -indolylacétique.

En se basant sur les propriétés chimiques des auxines *a* et *b* et de l'hétéroauxine, KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN (1934) purent encore confirmer les résultats précédemment acquis.

En effet l'auxine *a*, très sensible aux solutions alcalines étendues chaudes, est stable vis-à-vis des acides alors que l'hétéroauxine, comme d'ailleurs les dérivés de l'indol, est indifférente aux solutions alcalines chaudes mais détruite par les acides. L'auxine *b* est inactivée à la fois par les traitements acide et basique.

Or l'expérience a prouvé qu'un extrait de substance active provenant de pointes de plantules de maïs perd toute son activité après un traitement de trois heures à l'ébullition dans une solution de potasse à 1/N, alors qu'il reste au contraire actif, quand il subit un traitement analogue en solution chlorhydrique à 5 o/o. Elle montre aussi que l'hormone élaborée par les champignons est détruite par un traitement acide et qu'en conséquence celle-ci doit être identifiée à l'hétéroauxine.

Ces dernières données et les déterminations de poids moléculaire permettent de conclure que les substances de croissance formées par les plantes herbacées, sont vraisemblablement du type auxine *a* et excluent la possibilité d'une identité entre l'hormone

d'élongation des plantes supérieures et celle que produisent les microorganismes et les champignons.

Mais des faits nouveaux rendent ces conclusions beaucoup moins intangibles. Tout d'abord, VIRTANEN et T. LAINE (1936), procédant à la recherche d'amino-acides chez plusieurs légumineuses (*Pois*, *Trèfle*), ont constaté que la teneur en tryptophane varie au cours du développement de ces plantes. Plus élevée chez les jeunes plantules que dans la graine, elle diminue au début de la maturité. Ces auteurs ont suggéré que le tryptophane pouvait être utilisé à certaines périodes de la végétation et converti en un facteur de croissance, l'hétéroauxine.

De même, l'obtention *in vitro* d'acide β -indolylacétique sous l'influence de la lumière et du rayonnement ultra-violet à partir du tryptophane (BERTHELOT et AMOUREUX, 1938 *b*) rendait possible d'admettre la formation d'hétéroauxine dans les plantes supérieures exposées à la lumière.

Les travaux de J. LEFÈVRE, parus quelques mois après (1938), montrant l'existence normale de l'acide β -indolylacétique dans les différentes plantes supérieures (radis, chou-fleur, cresson de fontaine, asperge, bourgeons et pousses diverses), faisaient de cette hypothèse une certitude.

La technique suivie par cet auteur est fort simple. Elle utilise les réactions colorées bien connues de l'acide β -indolylacétique qui sont essayées soit sur le jus frais des végétaux exprimés à froid, soit sur des extraits obtenus à l'aide de divers solvants (alcool amylique, butylique, éther) ⁽¹⁾.

Les résultats expérimentaux, nettement positifs pour le radis, le chou-fleur, le cresson et l'asperge, indiquent également que les quantités d'acide sont plus fortes lorsque les plantes sont récoltées au cours d'une période active de croissance. En outre, l'analyse révèle une localisation de l'élément indolique qui se trouve à des doses plus élevées dans la pointe, chez l'asperge, dans l'inflorescence, chez le chou-fleur, et dans la feuille, chez le radis. Par com-

(1) Suivant la méthode d'étude de la fonction indologène préconisée par A. BERTHELOT :

1^o HCl et traces de Fe²Cl⁶ (coloration rouge cerise).

2^o H²SO⁴ et KNO³.

3^o Caractérisation par la réaction d'ERLICH du scatol produit en portant vers 200° le résidu d'évaporation (*Ann. Inst. Pasteur*, p. 839, 28, 1914).

paraison avec des solutions d'acide synthétique de titre connu, il a été possible d'évaluer la concentration de l'hétéroauxine qui est énorme et dépasserait 10^{-5} du poids de matière fraîche.

Pour d'autres végétaux (navet, jeune betterave, pousses de sureau, oseille), les réactions colorées sont encore positives quoique plus faibles. En outre, LEFÈVRE constate la présence d'acides voisins (acides indolylbutyrique et indolylpropionique), chez le Maronnier d'Inde, l'oignon et la carotte.

De plus, cet auteur a observé tout dernièrement (1939) que les végétaux qui présentent des manifestations pathologiques contiennent eux aussi de l'acide indol-3-acétique.

Ces données qui se heurtent aux conclusions admises jusqu'ici laissent donc supposer qu'une partie des substances de croissance rencontrées dans les organes de diverses plantes supérieures peut être assimilée à de l'hétéroauxine. Mais des recherches plus nombreuses devront être entreprises avant qu'on puisse considérer ce dérivé de l'indol comme une véritable phytohormone présente dans les plantes supérieures.

c) *Formation de l'auxine dans les plantes vertes.*

Elle a d'abord été étudiée par W. WENT (1928) qui a trouvé que seule l'extrême pointe du coléoptile, 0 mm. 7 environ, élabore de l'auxine. L'hormone de croissance est plus rare dans les zones inférieures de la tigelle, soit parce qu'elle est employée dans la croissance, soit parce qu'elle est détruite pendant sa migration vers la base. Les conclusions de NAGAO (1936), tirées de son étude sur les racines d'avoine, concordent avec celles de WENT.

Un fait important a été signalé par VAN DER WEIJ (1931). Cet auteur a montré que la pointe isolée du coléoptile d'avoine, posée sur une plaque d'agar, laisse diffuser de l'hormone de croissance, pendant plusieurs heures, pourvu que la température soit inférieure à 30°. Ceci conduit à penser que l'extrémité apicale du coléoptile continue à élaborer de l'auxine et que cette activation s'arrête seulement lorsque les substances desquelles dépend la formation de l'hormone, désignées par SKOOG sous le nom de « pré-curseurs », sont épuisées.

I. — INFLUENCE DES FACTEURS EXTERNES

α) Température.

L'action de la température sur la production d'auxine par les plantes a été étudiée par de nombreux auteurs. Du Buy (1933) a nettement établi que des températures trop basses ou trop élevées inhibent la formation de l'hormone de croissance. Il fixe la température optima à 25°.

β) Gravité.

Il résulte de recherches déjà anciennes de WENT (1926), de DOLK (1930) que la gravité, quelle que soit sa direction d'action, n'exerce aucun effet sur la production des matières actives. Ceci a été confirmé plus récemment par PFAELTZER (1934).

γ) Age.

Déjà THIMANN et SKOOG (1933-1934), après avoir signalé que, chez *Vicia faba*, le centre de production de substances de croissance réside dans le bourgeon terminal et les feuilles embryonnaires, ont indiqué que toutes les jeunes feuilles en produisent un peu, mais que les vieilles feuilles en sont totalement dépourvues.

AVERY (1935) trouve que, chez *Nicotiana*, l'auxine est produite dans le limbe de la feuille, et que la quantité maxima est donnée par les jeunes éléments ne dépassant pas 20 centimètres carrés de surface. Après quoi, le taux de production baisse constamment avec l'âge.

Enfin, plus récemment, DELISLE (1937) a montré que chez l'*Aster* la concentration en hormone de croissance varie en fonction inverse de l'âge de la plante. Il trouve aussi une relation linéaire entre l'âge de la feuille et la taille; les feuilles les plus jeunes produisent la plus grande quantité d'auxine.

δ) Lumière.

Les premières observations qui relatent une influence manifeste de la lumière dans la formation des substances de croissance sont dues à VAN OVERBEEK (1933). Des plantules de *Raphanus* qui, cultivées à l'obscurité, donnent au début autant de substance active que d'autres exposées à la lumière, n'en produisent plus après

9 jours. Par contre, des quantités importantes d'hormone peuvent être extraites de plantes âgées de 19 jours laissées à la lumière. OVERBEEK constate également que les feuilles provenant de cultures faites à la lumière sont plus riches en auxine à la fin de la journée qu'à la fin de la nuit.

Le comportement de *Vicia faba* est, d'après THIMANN et SKOOG (1933-1934), à peu près identique. AVERY (1935) constate également que l'auxine est absente des jeunes pousses et des feuilles d'un plant de *Nicotiana* cultivé en chambre noire, mais qu'il suffit d'une exposition d'une journée à la lumière pour que la concentration redevienne normale.

Ainsi, toutes les observations faites jusqu'à ce jour sont d'accord pour conclure que la formation d'auxine dans les plantes vertes ne peut se faire qu'à la lumière.

2. — LES « PRÉCURSEURS » DE L'AUXINE

Jusqu'à ces toutes dernières années on croyait généralement que même à l'obscurité les substances de croissance étaient formées dans la pointe du coléoptile d'avoine. Mais à l'heure actuelle, à la suite des travaux de divers auteurs et en particulier de POHL et SKOOG, on admet que l'auxine qui diffuse de l'extrémité apicale provient de substances de réserves situées dans l'endosperme de la graine. Ainsi le rôle de la pointe se bornerait à rendre actives ces matières de réserves que l'on considère comme des « précurseurs » d'auxine.

VAN OVERBEEK, à la suite de ses recherches sur l'influence de la lumière sur la production de l'hormone de croissance, formulait l'hypothèse intéressante que celle-ci avait dans la jeune plantule une double origine : elle pouvait se former aux dépens des réserves de la graine, ou bien prendre naissance dans les cotylédons pourvus de chlorophylle sous l'action de la lumière, mais il ne donnait aucune preuve expérimentale à ce sujet.

Un peu plus tard, POHL (1935-1936) traitait par un courant d'eau, ou une solution de sucre, des grains d'avoine légèrement gonflés d'eau et sur lesquels il avait pratiqué au préalable soit une légère incision, soit une simple piqûre. Il constatait que les coléoptiles issus de telles semences restaient petits. Ce résultat était dû d'après l'auteur, au fait que le traitement appliqué aux graines débarras-

sait l'endosperme ⁽¹⁾ de toute substance active. De plus, il montrait que l'apport d'auxine pure, ou d'un extrait d'urine, rendait le lessivage de l'endosperme inactif et que la croissance redevenait normale. Ainsi se trouvait marquée l'influence qu'exerce la graine sur la production d'auxine dans la jeune plantule. POHL ajoute que l'hétéroauxine est incapable de restituer à des graines ainsi traitées leur faculté de croissance et c'est là un fait important sur lequel nous reviendrons.

Les expériences très complètes de SKOOG (1937) montrent nettement le rôle de la graine dans l'élaboration de l'auxine par les autres parties de la jeune plantule d'avoine. Il sépare le coléoptile de la graine et constate par des mesures précises que la quantité d'hormone décroît constamment dans l'extrémité apicale. De plus si les tigelles sont décapitées 12 heures après l'isolement de la graine, on n'observe plus le phénomène de la régénération physiologique de la pointe (chapitre I, *a*). Cependant, le fonctionnement cellulaire ne paraît nullement affecté par ces diverses opérations car SKOOG constate que les coléoptiles gardent leur sensibilité vis-à-vis d'un apport d'auxine.

Ces faits expérimentaux montrent largement que l'extrême pointe du coléoptile ne produit pas elle-même l'hormone de croissance et que la graine joue un rôle de premier ordre. Pour SKOOG, une substance dite « précurseur » présente dans la graine est transportée en haut vers la zone apicale du coléoptile où elle est transformée en auxine, qui, à son tour, passe vers le bas dans le parenchyme de la plantule.

Il restait alors à SKOOG à déterminer la nature de la substance qui émane de la graine vers l'extrémité du coléoptile. Pour cela, il isole une jeune plantule de sa graine, la décapite et recueille le produit émis par la souche dans un cube d'agar. Ce dernier porté sur une plantule de réaction décapitée est incapable de provoquer en deux heures la courbure caractéristique du test WENT. Cependant une légère incurvation se manifeste si le contact du bloc de gélose se prolonge de deux à six heures. Cette courbure tardive indique que la substance obtenue de la souche est convertie en auxine dans les tissus de la plante de test.

(1) Les substances de réserves promotrices de l'auxine seraient, d'après MEYER, contenues soit dans l'endosperme de la graine, soit, pour les graines sans endosperme dans les feuilles de germination.

Une transformation de même nature est obtenue à nouveau par SKOOG dans une expérience où des fragments de gélose contenant du tryptophane (substance inactive sur le test avoine) sont placés sur des souches dépourvues auparavant de leur graine. Ici encore les souches ne s'incurvent qu'après un temps très long. Ce fait s'explique en admettant que le tryptophane est transformé par oxydation partielle en hétéroauxine. Malgré ces belles recherches la nature chimique du précurseur est encore inconnue.

Pour expliquer le comportement différent de l'auxine et de l'hétéroauxine dans les expériences de POHL, — sur les graines dont l'endosperme a été soumis à l'action d'un solvant —, WENT et THIMANN (1937) suggèrent que l'auxine *a* serait estérifiée et l'ester transporté vers la pointe du jeune coléoptile. Au contraire, les esters de l'acide indol-3-acétique, étant promptement hydrolysés dans la plante, ne pourraient être transportés conformément à la polarité du coléoptile. Cette conception est appuyée par les travaux de KÖGL et de ses collaborateurs qui ont obtenu des quantités importantes d'auxine après saponification d'huiles extraites de diverses graines.

De l'ensemble de ces faits, il paraît résulter que la production de l'auxine dans la plante n'est imputable ni à l'activité méristématique des tissus ni à la présence de cellules embryonnaires. Elle proviendrait des réserves de la graine d'où elle émigrerait, sans doute sous la forme d'ester inactif, vers l'extrémité apicale de la plante où elle serait transformée en hormone active.

d) *La répartition de l'hormone de croissance dans la plante.*

L'hormone de croissance est distribuée en quantité plus ou moins grande dans les diverses parties de la plante. Cependant, les premiers chercheurs : STARK (1921), NIELSEN (1924) ne la trouvèrent pas et WENT (1928) ne put la mettre en évidence que dans l'extrémité apicale des coléoptiles. C'est SÖDING qui le premier (1929), par des mesures de croissance droite, la décela dans des sections de plantules prélevées au-dessous de la pointe.

Les résultats négatifs auxquels aboutirent les premiers chercheurs sont expliqués par THIMANN (1934) : la méthode de diffusion employée dans tous les cas ne permettait de recueillir que l'auxine libre. Il montre qu'en soumettant les tissus de la plante à une

extraction par le chloroforme on peut titrer toute l'auxine présente dans la plante : la forme libre active et la forme inactive. En procédant ainsi il trouve que l'hormone de croissance est présente dans les plantules d'avoine en quantités croissantes depuis le germe jusqu'à l'extrémité de la tigelle et de la radicule.

L'utilisation du test de réaction *Cephalaria*, plus sensible que le test *Avena*, a permis néanmoins à SÖDING (1935) de détecter par la méthode de diffusion l'auxine contenue dans les zones les plus basses du coléoptile d'avoine qu'il évalue à 25 0/0 de la quantité produite par la pointe. SKOOG obtient les mêmes résultats en employant comme test réactif des plantules d'avoine dégrainées ; il a pu également extraire de petites quantités d'hormone de la feuille primaire.

La présence d'auxine a été signalée également dans les nervures des feuilles de *Nicotiana* (AVERY, 1935), dans les hypocotyles de *Lupinus* (DIKMANN, 1934), dans *Sorghum vulgare* (DOLLFUS, 1936).

D'une manière générale, l'auxine apparaît dans toutes les parties de la plante mais avec une prédominance marquée dans les régions apicales qui subissent une elongation active.

e) Transport de l'auxine dans la plante.

On sait que l'auxine finalement élaborée dans les bourgeons de la plante, diffuse du sommet de la tige vers les parties les plus basses. Mais malgré de nombreuses recherches, les modalités de la migration de l'hormone de croissance (voies de transport, polarité, vitesse, nature du mécanisme) sont encore assez obscures et les conclusions difficiles à tirer.

1. — VOIES DE TRANSPORT

L'étude du phototropisme et du géotropisme montre que l'excitation unilatérale de la lumière ou de la pesanteur provoque d'abord un déplacement de l'hormone dans une direction oblique, ce qui fait admettre que le transport de l'auxine dans le coléoptile d'avoine s'effectue dans toutes les parties du parenchyme et non pas seulement dans les faisceaux libéro-ligneux.

De plus, il résulte d'un grand nombre de travaux, notamment de ceux de WENT et de THIMANN que l'application d'un bloc porteur

d'auxine sur un coléoptile provoque toujours une courbure de même intensité, qu'il soit placé sur un faisceau vasculaire ou non. La localisation précise de cette courbure négative écarte, ou du moins rend insignifiante, dans des conditions normales, l'existence d'un transport latéral de la substance.

Cependant des faits contradictoires ont été signalés par divers auteurs : VAN DER WEIJ (1932) a trouvé que la courbure du coléoptile est plus grande quand le bloc qui contient l'auxine est placé sur la face large dépourvue de faisceaux vasculaires.

Par contre, O. BAFFET, R. DUNAND et C. VEIL (1933) étudiant la transmission de l'excitation phototropique dans le coléoptile d'avoine trouvent que « si F.⁽¹⁾ est exposé à la lumière, la courbure phototropique se produit au bout d'un temps presque deux fois plus court que si l'éclairement porte sur *f* » et admettent après examen histologique de la plantule que, pour une même distance, la vitesse de conduction dépend du nombre de parois cellulaires à franchir et qu'elle est plus grande en conséquence dans les fibres du bois. LAIBACH et KORNMAN (1933 *b*) constatent d'autre part, que l'auxine fournit sur le côté étroit d'un coléoptile intact provoque des courbures plus fortes que si l'application est faite sur le côté le plus large et ils attribuent un rôle possible au tissu conducteur vasculaire. Mais ces expériences n'excluent en aucune sorte le rôle du parenchyme avoisinant.

Il ne nous a pas été possible, dans nos recherches personnelles, de relever de différences sensibles dans la courbure de coléoptiles suivant que le bloc d'agar porteur de substances actives (urine, salive, extraits de divers tissus) était porté sur une face étroite ou sur une face large.

Des travaux récents montrent, néanmoins, que dans d'autres organes le cheminement de l'auxine peut s'opérer de différentes façons. Des observations faites sur la migration normale de l'auxine dans les feuilles de *Nicotiana* (AVERY, 1935) et de *Coleus* (FISCHNICH, 1935) montrent qu'elle se meut presque exclusivement à travers les faisceaux libéro-ligneux des nervures. Pour COOPER (1936) le mouvement s'effectue dans les tiges de *Citrus* principalement au travers du phloème. Enfin, HITCHCOCK et ZIMMERMANN (1935) admettent que

(¹) F, désigne une des deux faces étroites du coléoptile contenant les faisceaux libéro-ligneux, *f*, une des deux faces larges.

l'auxine appliquée sous forme de pâte à des plantes de tomate se déplace dans les cellules du bois et du liber.

Ainsi, on peut admettre que la migration de l'auxine dans la plante s'effectue dans toutes les cellules vivantes, dans le parenchyme, dont les cellules sont fortement allongées dans la direction du transport, et, également, au travers des faisceaux libéro-ligneux et de leurs cellules accompagnantes.

2. — POLARITÉ DU TRANSPORT

La polarité du transport de l'hormone de croissance a été entrevue par PAÁL (1919) qui déjà admettait que la substance formée dans la pointe du coléoptile, se déplace de haut en bas à travers les tissus. Mais c'est à la suite des travaux de BEYER, de F. W. WENT qu'elle a été édifiée sur de solides bases expérimentales (fig. 9 à 12).

BOYSEN-JENSEN, dès 1914, avait montré que le stimulus phototropique se propage dans le coléoptile d'avoine au travers d'une coupure. BEYER (1928) eut l'idée d'interposer, entre la pointe et la souche de coléoptiles décapités, un cylindre prélevé sur d'autres plantules. Il opère sur deux séries de plantes : dans la première, il intercale le cylindre en lui conservant sa position normale, dans la seconde, il lui donne une position inverse. Sous l'action d'une lumière unilatérale qui frappe toutes les pointes de coléoptiles ainsi préparés, il constate que, seuls les premiers se courbent phototropiquement ; les seconds restent droits. Il conclut que le stimulus phototropique ne peut se transmettre que dans la première série de plantes conformément à la théorie du transport polaire entrevue par PAÁL.

La même année, F. W. WENT (1928) établit que la transmission apicale-basale du stimulus, définitivement démontrée par BEYER, est due au transport polarisé de l'hormone de croissance. Il prélève dans des coléoptiles d'avoine des sections de même longueur qu'il place les uns orientés normalement, les autres inversés sur des blocs d'agar sans substance de croissance. Il recouvre l'autre extrémité de tous ces tronçons de coléoptile par un bloc de gélose de même volume que le précédent, mais contenant une quantité connue d'auxine voisine de la concentration physiologique. Après un certain temps de contact, il procède à la détermination quantitative de l'auxine qui se trouve dans les blocs d'agar supérieur et inférieur de chaque fragment de plantule. Les résultats montrent que l'auxine

se déplace du cube supérieur dans le cube inférieur seulement dans la première catégorie de cylindres et que la quantité trouvée dans le bloc inférieur est sensiblement égale à celle qui a disparu du bloc

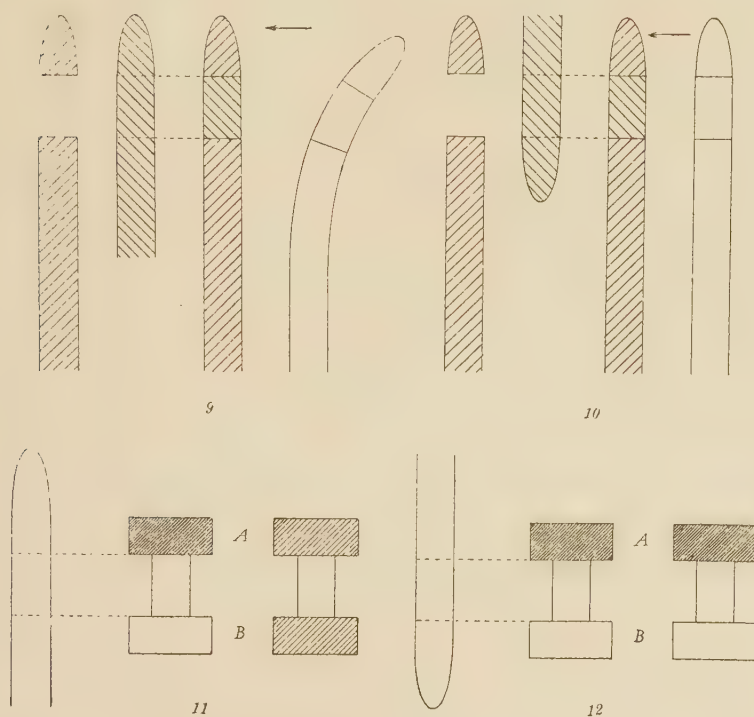


Fig. 9 à 12. — Transport polaire de l'auxine dans le coléoptile d'avoine.

9, 10. Expérience de BEYER (1928) montrant que le stimulus phototropique se propage dans une portion de coléoptile en position normale (9) et qu'il est arrêté dans le cas contraire (10). (La flèche indique la direction de la lumière).

11, 12. Expérience de F. W. WENT : l'auxine contenue dans le bloc supérieur A, diffuse dans le bloc inférieur B, si la section de coléoptile qui les réunit est dans la position normale (11). Si la position du tronçon de plantule est inversée (12), l'auxine ne diffuse plus et reste dans le cube supérieur (A). (D'après F. W. WENT et K. V. THIMANN, *Phytohormones*, The Mac Millan Company New-York, p. 93, 1937).

supérieur (une partie, mais infime disparaît inactivée au cours de l'expérience). Pour la deuxième catégorie de cylindres inversés, l'hormone ne parvient pas dans le bloc inférieur. Il résulte de ces

expériences que le transport de la substance de croissance ne peut s'effectuer que de l'extrémité apicale à l'extrémité basale, c'est-à-dire dans le sens où elle voyage normalement.

3. — VITESSE DU DÉPLACEMENT

En même temps qu'il confirmait la stricte polarité apicale-basale du transport de l'auxine, VAN DER WEIJ (1932-1934) put déterminer sa vitesse de migration dans le coléoptile. Il découpe dans une souche des sections hautes de 2 millimètres environ, il les dispose, sans changer leur orientation, sur de petits blocs de gélose non pourvus de substances de croissance ; puis il recouvre l'extrémité supérieure de ces petits manchons par un bloc d'agar riche en auxine. L'hormone pénètre dans les tissus du cylindre, les traverse et diffuse dans le cube inférieur. Le temps qui s'écoule entre l'application du bloc contenant l'auxine et l'apparition de celle-ci dans le cube inférieur permet de calculer la vitesse du déplacement. Après des recherches effectuées sur un grand nombre de plantes, VAN DER WEIJ conclut que la vitesse horaire est de 10 à 12 millimètres, à une température de 25°. Dans le coléoptile intact, elle pourrait atteindre 15 millimètres. De plus, les différentes hormones isolées n'ont pas la même vitesse de migration : l'auxine α est transportée à une vitesse supérieure, de 10 0/0 environ, à celle de l'acide β -indolylacétique.

4. — ACTION DES AGENTS EXTERNES SUR LA MIGRATION DE L'AUXINE

Il semble que la température est sans action sur la vitesse de déplacement de l'auxine. Par contre, elle influence considérablement la capacité, c'est-à-dire la quantité transportée par unité de temps. Celle-ci croît d'une façon constante de 0° jusqu'à un optimum qui est compris entre 35° et 40°.

L'action de la lumière a été interprétée différemment. WENT, d'abord (1926), attribuait à la lumière une action décroissante temporaire sur la vitesse de transport de l'auxine. Mais DU BUY (1934) a montré qu'une illumination latérale ou terminale n'agit pas sur la quantité d'auxine transportée au travers des sections de coléoptile. Aucun effet n'a pu être démontré non plus sur la vitesse de propagation de la substance de croissance dans l'*hypocotyle* de *Raphanus* (VAN OVERBEEK, 1936), ni dans le coléoptile d'avoine (BOYSEN-JENSEN).

5. — TRANSPORT ACROPÈTE ET LATÉRAL

Certains auteurs n'admettent pas que le transport de l'auxine dans la plante soit aussi strictement polaire que semblent l'indiquer les recherches de BEYER, WENT et VAN DER WEIJ.

HITCHCOCK et ZIMMERMANN (1935), ZIMMERMANN et WILCOXON (1935), ont réussi à faire pénétrer dans de jeunes pousses des solutions de substances de croissance synthétiques, soit par des surfaces de sections inférieures, soit par les racines, et ont constaté dans les deux cas que l'hormone de croissance est charriée vers le haut par le courant de transpiration où elle provoque la courbure épïnastique des feuilles, ainsi que l'apparition de racines adventives.

SNOW (1936) a également étudié les effets acropètes de l'auxine sur des coléoptiles d'avoine et des plantules de pois. La conclusion de son travail est que l'hétéroauxine a bien une action stimulant la croissance, mais que celle-ci se manifeste d'abord en direction apicale. Il note également qu'au cours de ce phénomène l'auxine circule en grande partie par les faisceaux conducteurs.

De même, les expériences de LAIBACH et FISCHNICH (1936) semblent prouver un transport acropète et latéral de l'hormone appliquée sur le limbe des feuilles de *Coleus*, en dehors de toute influence de la transpiration. Leurs conclusions s'opposent à celles d'EVERY (1935) qui indique que le transport d'auxine dans la feuille est essentiellement polaire.

Toutes ces données expérimentales — qui semblent porter une sérieuse atteinte à la théorie de la polarité du transport de l'auxine entrevue par PÄÄL et établie par BEYER, WENT et VAN DER WEIJ — ne sont pas aussi convaincantes qu'on serait tenté de le croire à première vue.

Différentes critiques peuvent être formulées à leur sujet : d'abord, les substances de croissance synthétiques apportées aux plantes en expérience sont fournies à de hautes doses qui ne correspondent pas aux concentrations physiologiques trouvées dans la plante. Cet apport massif d'auxine suffirait à masquer ou à faire disparaître le transport polaire. De plus, LAIBACH et FISCHNICH opèrent sur des feuilles dont les nervures sont coupées. Or que se passe-t-il ? L'auxine privée de ses voies normales chemine vers la pointe, et latéralement, seulement dans la partie de la feuille traumatisée, mais, dès qu'elle arrive à la nervure médiane, le transport redevient

polaire, comme il a été décrit par AVERY dans la feuille normale de tabac.

Ainsi, malgré ces controverses, la théorie de la migration strictement polarisée de l'hormone de croissance par la morphologie de l'organe végétal, reste à peu près entière. Elle est de même très vraisemblable dans la plante intacte puisque, comme nous l'avons vu, le stimulus tropistique ne peut s'opérer qu'en direction apicale-basale.

6. — LE MÉCANISME DU TRANSPORT AXIAL DE L'AUXINE

Il ressort des notions précédemment acquises sur le déplacement de l'auxine dans la plante — polarité et surtout vitesse élevée — que la migration n'est pas un simple phénomène de diffusion. De même, la capacité du transport qui, déterminée à une température physiologique, se montre indépendante de la longueur de la section de coléoptile, conduit à la même réserve. On est ainsi amené à admettre que le transport de l'auxine dans la plante est dû à l'activité vitale des cellules. L'expérience montre en effet qu'une température très basse, 0° par exemple, modifie la capacité du transport qui devient alors fonction de la longueur de section à parcourir, sans toutefois que la polarité soit troublée. L'effet des anesthésiques (éther) se traduit, si les concentrations de vapeur sont suffisantes, par l'arrêt de la polarité et aussi par une diminution de la capacité, qui est désormais inversement proportionnelle à la longueur de la section. Dès que la substance anesthésique cesse d'agir, les phénomènes redeviennent normaux.

Ces faits montrent que le transport de l'auxine dans la plante est un phénomène complexe. On a essayé d'expliquer cette migration en faisant intervenir l'action des courants protoplasmiques et des différences de potentiel électrique.

2) Courants protoplasmiques.

Leur influence a été invoquée pour la première fois par BRAUNER (1922), pour expliquer la transmission rapide du stimulus phototropique. Plus tard, en 1928, WENT a étendu cette vue au transport d'auxine dans le coléoptile. Mais VAN DER WEIJ (1932), ayant remarqué une indépendance à peu près totale de la vitesse du transport de l'hormone vis-à-vis de la température, n'admet pas le rôle des

courants protoplasmiques. Cependant, BOTTELIER (1934-1935) montre, qu'entre 17° et 35°, il n'y a pas de changement appréciable de la vitesse du courant protoplasmique dans le coléoptile d'avoine. De plus il découvre un parallélisme remarquable entre l'effet de la lumière sur la vitesse du courant et la réaction de croissance à la lumière ; il souligne que l'un et l'autre sont proportionnels à l'énergie totale et qu'ils présentent la même variation avec la longueur d'onde de la lumière. En outre, la quantité de protoplasma en mouvement dans le coléoptile subit des variations saisonnières et quotidiennes qui correspondent à des changements de sensibilité à l'égard de l'auxine ⁽¹⁾.

Il peut donc être admis que le courant protoplasmique agit sur le transport de l'hormone de croissance, mais, s'il en justifie la vitesse relativement grande et la capacité, il ne peut en expliquer la polarité.

3) Différences de potentiel.

WENT (1932) a essayé de donner une explication du phénomène de polarité en faisant intervenir les différences de potentiel électrique existant entre les deux extrémités de chaque cellule. Il opérait sur des plantules étiolées d'*Impatiens* auxquelles il faisait absorber des colorants vitaux, les uns basiques (safranine, violet de méthyle, rouge neutre, etc.), les autres acides (vert acide, vert lumière, méthyl-orange, etc.). Toutes ses expériences aboutirent à un résultat catégorique : les substances basiques voyagent en direction basifuge, les produits acides en direction basipète. Ce transport confirme l'hypothèse biologique, d'après laquelle la partie inférieure du végétal serait un pôle électrique positif attirant les ions négatifs des acides, tandis que le pôle négatif attirerait les ions positifs des bases. Ainsi les différences de potentiel causeraient un mouvement d'ions et, les auxines connues étant des substances ionisables, ce serait en somme un phénomène cataphorétique.

De nombreux auteurs ont essayé de réaliser le transport expérimental de substances de croissance sous l'action d'une différence de potentiel électrique. Ils ont conclu en général que : l'hormone

⁽¹⁾ K. V. THIMANN et B. M. SWEENEY ont constaté que l'auxine accélère le courant protoplasmique dans les cellules du coléoptile d'avoine et que cette action dure environ une demi-heure (*Nature*, CXL, p. 807, 1937 a).

se porte vers le pôle positif (BRAUNER et BÜNNING, 1930 ; AMLONG, 1934 ; KOCH, 1934 ; POHL, 1936).

Les expériences de KOCH paraissent à ce sujet très convaincantes. Il a pu faire apparaître sur de jeunes hypocotyles d'*Helianthus* des courbures « électropiques » en soumettant la jeune plantule à des différences de potentiel de 10-100 millivolts. Le dispositif expérimental est le suivant : des électrodes de platine reliées à une source de courant, pile de lampe de poche, sont placées sur la tigelle, l'anode sous la feuille cotylédonnaire et du côté droit, la cathode à gauche et deux centimètres plus bas. La courbure importante dirigée vers le pôle négatif qui apparaît témoigne d'un enrichissement en hormone réalisé par la face correspondant au pôle positif du système. La teneur en auxine du côté où la croissance s'avère active est déterminée à l'aide d'un test biologique. Des germinations d'*Helianthus* préparées de la même manière, mais non soumises à l'action de la source électrique, restent rigoureusement droites. Ces témoins montrent que la courbure n'est pas imputable à l'action des électrodes de platine.

En plaçant des coléoptiles d'avoine ou diverses plantes, dans un champ électrique artificiellement créé, il a pu aussi montrer :

1° que l'action unilatérale de la pesanteur pouvait être inhibée si on appliquait le pôle positif à la partie supérieure de la plantule ;

2° que l'effet d'un éclaircissement unilatéral était également détruit si on plaçait l'anode sur la face soumise à la lumière.

Et enfin il a été établi que l'hormone de croissance contenue dans une plaque d'agar est déplacée par la même source d'énergie. L'auxine est transportée vers le pôle positif ⁽¹⁾. C'est le caractère acide de la substance de croissance qui explique le transport à l'anode. Cette manière de voir est renforcée par le fait que l'acide β -indolylacétique, soumis à une différence de potentiel, se comporte d'une manière identique, alors que son méthyl-ester n'est pas déplacé, bien qu'il soit physiologiquement actif.

Les données de RAMSHORN (1934) montrent qu'une telle manière de voir ne correspond pas exactement aux faits. Il constate que sur le coléoptile non soumis à des excitations phototropiques ou géo-

⁽¹⁾ Les expériences de POHL (1936) conduisent à la même conclusion. Voir chapitre II, A.

tropiques les régions où la croissance est la plus rapide sont électropositives, à l'inverse des régions où la croissance est faible. D'autre part, l'apport de substance de croissance sur l'un des côtés des coléoptiles accélère la croissance de cette face : on obtient une différence de potentiel, le côté qui croît le plus vite devenant électropositif. Pour RAMSHORN, l'enchaînement des divers processus est le suivant : répartition inégale de la substance de croissance, croissance inégale et différence de potentiel.

CLARK (1935) montre cependant que le coléoptile est normalement électronégatif à la base. Après illumination, cette négativité décroît d'abord, elle augmente ensuite jusqu'à un maximum, puis tombe à sa valeur initiale et fluctue. Il trouve que les potentiels observés offrent un parallélisme intéressant avec la réaction de croissance à la lumière mais non point avec le transport d'auxine.

Ainsi l'examen de ces différents systèmes, quoique fort suggestif, ne permet pas d'établir d'une façon indiscutable une théorie électrique du transport de l'hormone de croissance.

II. — *L'auxine produite par les microorganismes.*

Nous avons vu (valeur du poids moléculaire et instabilité vis-à-vis des solutions acides) que les substances produites par les microorganismes et les champignons, capables de provoquer la croissance des coléoptiles d'avoine, étaient de l'hétéroauxine ou acide β -indolylacétique.

NIELSEN (1928-1930) a été le premier à montrer qu'une substance auxogène qu'il appela « rhizopine » est produite dans diverses cultures de champignons. Ce même chercheur (1931-1932), BOYSEN-JENSEN (1931-1932), KÖGL et HAAGEN-SMIT (1931), ainsi que NEMEC (1930), ont pu prouver que *Rhizopus suinus*, *Absidia ramonae*, *Aspergillus niger* forment une substance active sur le test avoine lorsqu'ils sont cultivés en milieu contenant du tryptophane, de la tyrosine ou l'un des deux amino-acides cycliques : phényl-alanine ou histidine, ou enfin l'un des deux amino-acides aliphatiques : leucine ou lysine. KÖGL et KOSTERMANN (1934) montrent que dans les produits formés par les levures, *Rhizopus suinus*, et *Aspergillus niger*, se trouve de l'acide β -indolylacétique. TIMMANN (1935) peut également identifier, dans les cultures de *Rhizopus suinus*, le pro-

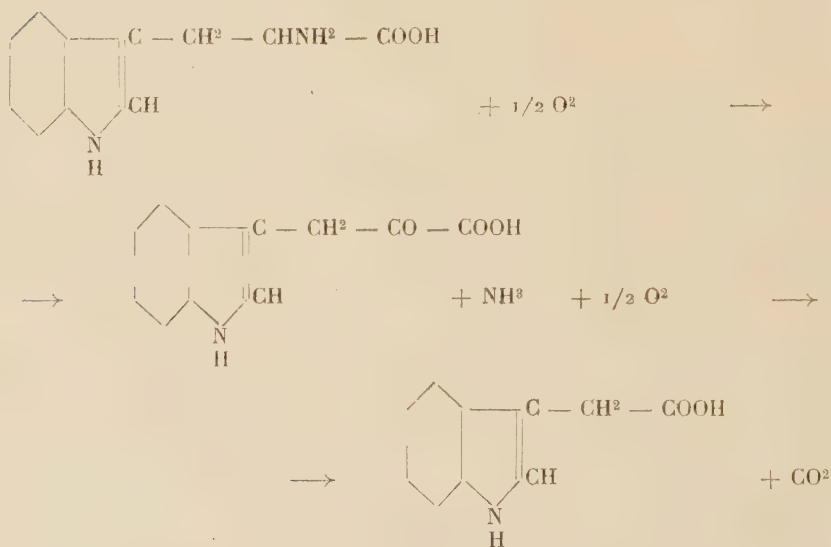
duit élaboré, ou « rhizopine », avec l'acide β -indolylacétique et l'extraire à l'état pur et cristallisé. D'après HEYN (1935) les *Phycomyces* donnent le même acide.

Il était d'ailleurs connu depuis longtemps que les bactéries désintègrent le tryptophane et que, lorsqu'elles ne produisent pas de l'indol libre, elles donnent généralement de l'acide indol-3-acétique. La formation de ce dernier acide est certainement due à la désamination oxydative du tryptophane, en passant par le stade intermédiaire d'un acide cétonique et il semble :

1° qu'une peptone très pauvre en cet élément ne permet qu'une production insignifiante d'hétéroauxine (THIMANN, 1935);

2° que, sur une peptone riche en tryptophane, le rendement en substance auxogène est fonction de l'aération (THIMANN et DOLK, 1933).

Ce dernier fait s'explique par l'entrée de l'oxygène dans la réaction



Certains corps, par exemple les hydrates de carbone, facilitent la production d'hétéroauxine.

Il y a lieu de remarquer que, chez *Rhizopus suinus*, la plus grande quantité de substance auxogène apparaît au moment où la croissance du champignon a cessé; la concentration atteint alors

un maximum, puis elle décroît, l'hormone subissant une destruction oxydative.

L'hétéroauxine, qui a une action puissante sur l'allongement du coléoptile d'avoine et de beaucoup d'autres plantes supérieures, reste cependant sans effet sur le développement des champignons, quand on l'ajoute au milieu sur lequel ceux-ci se développent.

Des substances du type auxine, très actives sur l'allongement cellulaire des plantes supérieures, ont été trouvées dans les algues de mer du genre *Valonia* (VAN DER WEIJ, 1933), dans les mousses, les prêles et les fougères (MEYER, 1936). De plus des substances fonctionnant comme les auxines et diffusant en direction basipète depuis le sommet en voie de croissance, ont été également décelées par M. HOMÈS et G. VAN SCHOOR (1937) chez *Elodea canadensis*. Et ces auteurs ont pu montrer en outre que l'inhibition exercée par le point végétatif principal sur les bourgeons axillaires paraît être sous la dépendance des substances qu'il émet.

Mais aucune recherche n'a été entreprise pour déterminer leur nature chimique et il est impossible pour l'instant de dire s'il s'agit d'hétéroauxine, ou bien d'auxine *a* ou *b*.

Résumé du chapitre IV

En résumé, nous pouvons constater :

que tous les organes de la plante supérieure, renferment des substances de croissance que l'on peut assimiler, les travaux de J. LEFÈVRE étant encore trop fragmentaires, à de l'auxine *a*. Ces matières actives, élaborées dans les extrémités du coléoptile et dans les pointes de la racine, aux dépens d'un précurseur venant de la graine et dont la constitution est encore inconnue, émigrent polairement du sommet vers la base, et dans le sens longitudinal seulement, par un mécanisme qui n'est pas encore élucidé ;

que la substance auxogène ou hétéroauxine émise par les champignons et les microorganismes est de l'acide β -indolylacétique.

CHAPITRE V

LE RÔLE DE L'AUXINE DANS LA PHYSIOLOGIE DE LA PLANTE

I. — *L'auxine comme régulateur de croissance.*

a) *L'effet de l'auxine sur la croissance.*

Le rôle de l'auxine comme régulateur de croissance chez les végétaux a été mis en évidence depuis de nombreuses années. Déjà les expériences de PAAL (1919) montrent nettement qu'une substance concentrée dans la pointe exerce un effet régulateur sur l'allongement des cellules dans la partie basale du coléoptile. Des conclusions semblables sont établies par SÖDING (1923-1925) qui utilise une méthode de croissance droite. CHOLODNY (1926), opérant sur des sections d'hypocotyles de plantules étiolées de *Lupinus*, constate que la croissance est fortement diminuée si on détruit le cylindre central. Il montre aussi que l'activité de l'élongation, qui est trois fois plus faible que celle des segments de contrôle non évités, peut être rétablie quand on introduit, à la place du cylindre central, des pointes de coléoptiles de *Zea mays*. MOISSEJEWA (1928) confirme les résultats précédents en mettant, dans la partie creusée, de la gélose contenant les produits émis par des extrémités de plantule de maïs. Par la suite, les tests de F. W. WENT (1928) et de THIMANN et BONNER (1933) — Chapitre I, B — montrent que les effets de stimulation sont proportionnels, dans certaines limites, à la concentration de l'auxine. Mais c'est DOLK (1930) qui apporte la démonstration la plus rigoureuse. Il opère également sur le coléoptile d'avoine, où la zone d'élaboration de l'hormone, éloignée de la zone de riposte, peut être facilement isolée. Il montre que deux décapitations, effectuées à deux heures d'intervalle sur la même

plantule, arrêtent définitivement sa croissance et que celle-ci reprend si l'on applique un cube de gélose pourvu d'auxine à l'extrémité de la souche. DOLK conclut que « sans auxine, il n'y a pas de croissance ». Les recherches plus récentes de VAN OVERBEEK (1933) sur *Raphanus* et de DIJKMANN (1934) sur *Lupinus*, montrent que la croissance de l'hypocotyle est proportionnelle à la quantité d'auxine. De même, AVERY et BURKHOLDER (1936) constatent, chez le coléoptile d'avoine, qu'en dehors de la zone apicale qui ne s'allonge pas et d'où les auxines diffusent vers les parties inférieures, les zones de plus rapide croissance en longueur sont celles qui possèdent la plus grande quantité d'auxine.

Tous ces faits prouvent de façon satisfaisante que la croissance chez les végétaux est contrôlée par la présence d'auxine.

b) *Influence de facteurs internes sur l'effet de l'auxine.*

Les recherches de DU BUY (1936) sur le coléoptile d'avoine ont montré que l'action de l'auxine n'est pas continue. Cet organe n'est sensible aux hormones de croissance qu'à un certain stade de son développement; avant et après cette période, il ne manifeste plus de réaction. En général, les plantes âgées montrent une extensibilité diminuée (DU BUY, 1933) qui serait due à l'épaississement de la paroi cellulaire. Cela expliquerait leur réponse relativement faible vis-à-vis de l'hormone.

D'autre part, l'influence de l'auxine sur la croissance du coléoptile est limitée, comme nous l'avons vu (Chapitre I, § c), par un facteur aliment venant de la base. En effet, des plantules dégrainées quelque temps avant l'application d'auxine ont une croissance limitée qui s'explique par le manque ou l'absence de nourriture. De même, l'apposition de pâte d'auxine faiblement concentrée sur un côté de la pointe d'un coléoptile intact fait apparaître une courbure qui se manifeste seulement à 6-10 millimètres au-dessous de la zone d'application. Puisque l'auxine est ici en excès, une courbure si basse ne peut s'expliquer que par l'insuffisance du facteur alimentaire dans la partie haute.

Ces exemples montrent nettement que la croissance est le résultat de l'interaction de deux facteurs, l'auxine d'une part, diffusant du sommet, le facteur aliment, de l'autre, venant de la base de la souche.

c) *Relations entre la taille de la plante
et la quantité d'auxine.*

A ce sujet, l'expérimentation a donné des résultats variables. CHOLODNY (1931), et surtout LAIBACH et KORNMAN (1933), ont montré qu'il n'était pas possible d'augmenter la taille finale par l'application de fortes quantités d'auxine. Ils ont constaté seulement un accroissement temporaire du taux d'élongation.

Mais WENT (1935), en appliquant un pâte d'auxine concentrée à la pointe de coléoptiles intacts, réalise une croissance exagérée;

Les plantes atteignent une longueur de 66 à 72 millimètres, alors que les témoins ne dépassent pas 45 à 54 millimètres.

Il semble découler de ces résultats que la taille de certaines plantes est limitée par la quantité d'auxine produite.

En ce qui concerne la croissance normale des plantes, HAAN et GORTER (1934) ont constaté que les tailles de deux variétés de *Pisum sativum*, l'une très longue et possédant beaucoup d'entre-nœuds, l'autre plus courte, sont en relation avec des quantités d'auxine différentes. L'étude de la pression osmotique des cellules montre qu'elle est identique dans les deux variétés.

De même, des variations de la teneur en auxine, entraînant des variations dans le taux de croissance, ont été relevées au cours du développement ontogénétique de *Zea mays* : il y a une diminution progressive de l'auxine avec un minimum au moment de la floraison, et une remontée à la fructification, moment où se fait d'ordinaire, dans beaucoup de plantes, une nouvelle poussée de croissance.

Evidemment, le problème, très complexe, est difficile à élucider. Cependant VAN OVERBEEK (1935) a apporté à ce sujet des données nouvelles fort intéressantes.

d) *Auxines et potentiel d'oxydo-réduction.*

L'étude chimique de l'auxine a démontré qu'elle présente une extrême sensibilité à la destruction oxydative et qu'*in vitro* elle est facilement détruite par l'eau oxygénée. Dans les tissus de la plante, elle serait inactivée par une action enzymatique que l'on attribue aux oxydases et aux peroxydases (BONNER et THIMANN, 1935).

VAN OVERBEEK (1935) a étudié la production de l'hormone de croissance dans une variété naine de *Zea mays* où le nanisme résulte d'une inhibition de mésocotyle. La longueur du coléoptile est la même que dans une race normale. En appliquant la méthode classique de diffusion, il constate que la variété *nana* produit moins d'auxine que les maïs normaux. De plus, pour une quantité donnée d'hormone, il y a chez la variété naine une croissance moindre. Il conclut en admettant que la destruction de l'auxine par la variété naine est plus intense et que c'est là la cause du nanisme. Il met cette destruction en rapport avec une activité plus grande de catalase et de peroxydase. S'inspirant des travaux de VAN EULER (1919) qui a montré que l'activité de la catalase des levures pouvait être augmentée si on les plaçait pendant une heure à une température de 60°, VAN OVERBEEK soumet une germination de maïs normal à 45°-50° pendant une heure. Il constate alors que l'activité de la catalase est accrue, que la destruction d'auxine est intensifiée et la croissance fortement ralentie. Ainsi, pour VAN OVERBEEK, le nanisme des plantes est dû à une augmentation de la destruction de l'hormone de croissance dans les tissus.

Plus récemment, LEHMANN (1936), puis HINDERER, GRAZE et SCHLENKER (1936) ont recherché la quantité d'auxine existant dans les extrémités caulinaires et dans les anthères mûres d'un grand nombre de races d'*Epilobium* et de leurs hybrides. Il résulte de leurs travaux que le petit *Epilobium* sécrète moins d'hormone que les races plus grandes et que l'inhibition de taille serait due à une insuffisance d'auxine. Enfin, SCHLENKER et MITTMANN (1936) ont pu stimuler la croissance de races petites par apport d'hétéroauxine.

En général, ces travaux démontrent que l'insuffisance d'auxine se traduit chez la plante par une inhibition de la taille, mais cela n'exclut pas l'action d'autres facteurs encore inconnus qui interviendraient dans le même sens.

e) Effets des rayons X sur l'hormone de croissance.

L'étude des rayons X sur l'hormone de croissance des plantes a été poursuivie par SKOOG (1934-1935). Il constate qu'une irradiation brutale en amène rapidement l'inactivation *in vitro* et *in vivo*. L'addition d'un sensibilisateur (éosine) des rayons visibles a le même effet sur les solutions d'auxine. Cette inactivation, qui a lieu

seulement en présence d'oxygène, a le caractère d'une oxydation photochimique. Sur les plantes (*Pisum*, *Avena*, *Helianthus*, etc.), l'irradiation se manifeste par une inhibition de la production d'auxine. La sensibilité des cellules végétales vis-à-vis de l'hormone ne serait pas altérée; de même, le transport de l'auxine resterait normal.

L'action de la lumière ultra-violette (LAIBACH et MASCHMANN, 1933) se traduit par l'inactivation de solutions d'auxine. KONINGSBERGER (1936) apporte des conclusions analogues.

La lumière blanche très vive agit sur les plantes par une diminution de croissance. VAN OVERBEEK (1937) explique le phénomène en admettant une destruction plus grande de l'auxine. Mais SKOOG (1934) croit à une moindre sensibilité des cellules vis-à-vis de l'auxine. On pourrait admettre, selon l'hypothèse nouvelle de KÖGL (1938), qu'une partie de l'auxine est transformée en lumi-auxine- α lactone, inactive.

II. — *Les auxines, facteurs d'élongation cellulaire.*

On sait que la croissance, que l'on définit comme un accroissement irréversible de volume, est caractérisée chez les plantes supérieures dès la germination de l'embryon :

1° par la production de nouvelles cellules qui se forment aux dépens d'amas de cellules embryonnaires ou méristèmes, localisés au sommet des tiges et des racines;

2° par l'élongation des cellules méristématiques primitivement isodiamétriques qui deviennent vacuolaires. Ces stades d'élongation se manifestent avec beaucoup d'intensité dans les hypocotyles de dicotylédones et les coléoptiles de monocotylédones;

3° par une différenciation qui aboutit à une structure déterminée (tiges, feuilles, racines).

Dans la phase d'élongation cellulaire, la masse protoplasmique augmente très peu et la cellule s'accroît surtout parce que les vacuoles grossissent à la suite de l'hydratation des solutions vacuolaires. On a cherché depuis longtemps à élucider le processus de ce phénomène et, tout d'abord, on a admis une relation directe entre la croissance et la pression osmotique.

Le volume d'une cellule à un moment donné représente l'expres-

sion d'un équilibre entre les pressions d'imbibition (des colloïdes cytoplasmiques) et osmotiques (de la solution vacuolaire) d'une part, et la tension de la membrane cellulaire, d'autre part. La tendance de la cellule à prendre de l'eau serait déterminée par la différence existant entre la pression osmotique de son contenu cellulaire et la pression exercée sur elle par les parois (URSPRUNG et BLUM, 1934). CZAJA (1935 *b*) suggérerait alors que l'auxine agissait en modifiant la valeur osmotique de la cellule. L'hormone; de nature acide, changerait la charge électrique de la membrane, entraînant une osmose négative qui serait suivie d'une turgescence très active.

Mais la théorie de CZAJA est insuffisante et n'explique pas la distension de la paroi glucidique. On a essayé depuis d'interpréter ce phénomène par une action profonde de l'auxine sur les propriétés de la membrane.

a) *Effet de l'auxine sur la paroi de la cellule.*

L'effet de l'auxine sur la paroi de la cellule a été étudiée par SÖDING (1931-1932), par HEYN (1931-1932 *a, b*-1934 *a*) et par BONNER (1934). SÖDING a montré que, dans le coléoptile d'avoine, l'extensibilité et surtout la plasticité de la membrane étaient fonction de la croissance. Les recherches de HEYN (1931-1932-1934 *a, b*), fort complètes, sur les coléoptiles, mettent nettement en évidence que la plasticité de la membrane est accrue sous l'action d'auxine ou d'hétéro-auxine. HEYN (1931) pique des coléoptiles d'avoine par leur base, sur une aiguille, en position horizontale; quelques-uns sont décapités, ce qui les prive au bout d'une heure de leur auxine; alors ils s'incurvent moins, sous la surcharge d'un poids, que les coléoptiles qui, décapités au moment même de recevoir le poids, sont riches en auxine; après retrait des poids, la déformation permanente est plus grande chez les coléoptiles riches en auxine que chez ceux qui en sont privés. Des essais de plasmolyse permettent en outre à HEYN de démontrer que l'hormone augmente la plasticité des membranes mais non l'extensibilité élastique.

De plus, l'imprégnation par de la lanoline contenant 0,2 0/0 d'acide β -indolylacétique exagère l'allongement que manifeste, sous l'effet d'un poids, une fibre de coton ou de chanvre. Elle accroît de même la courbure que provoque la surcharge d'un poids sur une tranche de pomme de terre, une tige d'orme, etc.

Ainsi les auxines stimulent l'allongement de la paroi cellulaire. Elles appartiennent à un des chaînons de la série des processus physico-chimiques qui aboutissent à l'augmentation de l'élasticité et de la plasticité des membranes cellulaires, ce qui permet à la pression osmotique de réaliser l'extension longitudinale du volume. Mais, malgré des recherches nombreuses (HEYN, 1933-1934; THIMANN et BONNER, 1933), on ne sait encore rien de définitif sur l'élément de la paroi cellulaire qui réagit sous l'excitation hormonale, ni pourquoi la membrane cellulaire résiste moins à l'étirement dans le sens axial que dans le sens transversal.

L'étude comparée des spectrogrammes aux rayons X montre, dans la structure des parois cellulosesiques de cellules jeunes, des raies d'interférence accessoires qui manquent à la cellulose morte. Ces raies qui disparaissent sous l'action de l'alcool absolu doivent, d'après l'auteur, jouer un rôle important dans le processus d'élongation. Ces recherches jointes aux travaux de SPONLER et de FREY WISSLINGH sur la structure de la membrane permettront sans doute de comprendre le phénomène de l'étirement dans le sens de l'axe de l'organe.

Récemment (1938), RUGE a étudié la croissance des membranes cellulaires chez des hypocotyles d'*Helianthus annuus* décapités, c'est-à-dire privés de leur centre élaborateur d'auxine. Il a observé que, dans de telles conditions expérimentales, l'accroissement de la membrane par apposition continue tandis que l'extension par intussusception est inhibée. Il explique ce fait en admettant que l'absence d'hormone entraîne une diminution du degré de gonflement de la pectine et un durcissement des substances intermicellaires. L'un et l'autre déterminent une nouvelle structure membranaire plus dense que chez l'hypocotyle normal. Ce changement structural rendrait impossible l'intussusception de macromolécules.

b) *Mécanisme de l'action de l'hormone de croissance.*

Nous avons vu que l'effet de l'hormone de croissance s'exerce sur la paroi cellulaire en provoquant un accroissement considérable de sa plasticité. Mais, si le phénomène d'élongation qui en résulte peut être facilement observé et mesuré, le mécanisme précis de cette action est par contre difficile à exposer.

Des calculs ont été effectués par THIMANN et BONNER (1933) en vue

de déterminer le rapport existant entre l'auxine qui pénètre dans le coléoptile d'avoine en croissance et le matériel de membrane cellulaire édifié à la suite de son action. Ils ont trouvé qu'une molécule d'hormone, à la température de 25° C., amène dans la membrane le dépôt de 3×10^5 « résidus d'hexose » correspondant à 150 micelles de cellulose. Les chiffres sont aussi élevés pour les autres constituants cellulaires (pectine, hémi-cellulose, protéine, etc.). Si la température baisse, par exemple à 15°, une plus grande quantité d'auxine est nécessaire pour déterminer le même effet. Ces résultats ne permettent pas de retenir l'hypothèse d'une combinaison de l'hormone avec les constituants de la membrane, c'est-à-dire une relation stoichiométrique entre l'hormone de croissance et les éléments de la paroi cellulaire, ni celle d'un effet de surface, par formation d'une couche monomoléculaire d'auxine sur la membrane cellulaire nouvellement formée, qui agirait sur cette dernière en modifiant sa perméabilité. Aussi est-on arrivé à admettre que l'auxine doit agir sur la croissance par une voie indirecte et selon toute évidence par catalyse.

Différents auteurs ont essayé d'expliquer le phénomène de croissance en faisant intervenir le caractère acide de l'auxine. STRUGGER (1933-1934), reprenant les expériences de FLURY (1932), constate aussi que des plantules d'*Helianthus annuus*, dont on a arrêté la croissance par décapitation, recommencent à s'allonger très activement lorsqu'on les noie dans l'eau ou l'huile de paraffine. Il en déduit que, dans ce cas, le facteur déterminant de la croissance serait l'acidification du protoplasme résultant de l'asphyxie des tissus, et suggère que, dans les conditions normales, les auxines doivent agir indirectement sur la croissance en modifiant le métabolisme cellulaire dans le sens d'une acidification plus intense.

L'action des acides sur la croissance des tissus est confirmée par BONNER (1934 a). Il place des coléoptiles décapités, donc dépourvus d'auxine libre, et dépouillés de leur épiderme, dans des solutions tampons de Mc. ILVAINE (phosphate, acide citrique) de pH variable. Il montre que les solutions acides augmentent la vitesse de croissance en modifiant la plasticité des parois cellulaires qui est accrue. Mais ses conclusions s'opposent à celles de STRUGGER. L'acide agirait, d'après lui, sur l'auxine qui existe dans la plante à l'état latent et qui serait alors transformée en hormone active.

Les expériences de THIMANN (1935) complètent ces résultats. Il

plonge des coléoptiles décapités dans l'acide tampon. Dès que l'accélération temporaire de croissance a cessé, il les met dans une nouvelle solution acide. Il constate qu'il n'y a désormais plus de croissance, car l'hormone qui existait à l'état de sel inactif a été utilisée au cours de l'élongation précédente. Par contre, après immersion dans une solution d'auxine, ces mêmes coléoptiles se remettent à croître.

Les recherches de J. BONNER et THIMANN montrent nettement la fragilité de la théorie de STRUGGER qui fait intervenir dans la croissance une modification des propriétés colloïdales du protoplasma sous l'influence de l'acidité de l'auxine. L'action de l'acide serait indirecte, elle se manifesterait sur l'auxine en réserve dans le coléoptile.

D'autres conceptions plus récentes, qui font intervenir les phénomènes respiratoires, ont été exposées par divers auteurs. BONNER (1933 *a*), après avoir décelé une action de l'auxine sur l'intensité de la respiration, ne put retrouver (1936 *b*) une telle influence par l'emploi d'hormone purifiée. Cette observation négative fut confirmée par KÖGL, VAN HULSSEN et HAAGEN-SMIT (1936). Mais tous ont constaté qu'une haute sensibilité des coléoptiles à l'hormone coïncide avec une respiration intensive. En effet, en présence d'azote, les coléoptiles ne s'allongent pas sous l'action d'un apport de substance étrangère. De même, des solutions de cyanure de potassium à N/1000, de phényluréthane, inhibant l'activité respiratoire, arrêtent la croissance. Si l'inhibition est partielle, l'activité de la croissance est en rapport direct avec l'intensité de la respiration.

VAN RAALT (1937) a étudié la relation entre le métabolisme et la production d'auxine. Il détermine la richesse en substance de croissance de pointes de racines de *Vicia faba* soumises, soit à une respiration réduite sous l'influence inhibitrice de faibles concentrations de KCN (20 à 205.10⁻⁵ mol.), soit à une respiration active dans une atmosphère d'oxygène pur. Dans le premier cas la teneur en hormone est augmentée, dans le second cas, elle est considérablement réduite. Ainsi, il est manifeste que les processus respiratoires prédominent sur la naissance et l'activité de l'auxine.

En 1937, K. V. THIMANN et B. M. SWENEY, en 1938, B. M. SWENEY et K. V. THIMANN ont montré que l'auxine accroît la respiration des tissus des coléoptiles d'avoine et qu'elle accélère la circulation protoplasmique. Son effet serait indirect : elle agirait sur les processus de consommation de l'oxygène, qui contrôlent le courant

protoplasmique, et la croissance, qui est tributaire de ce dernier. Le substratum chimique de ces différents processus serait probablement le sucre. Ces conclusions se rapprochent des données de BOTTÉLIER (1934) qui admettait que la respiration, la circulation du protoplasma et la sensibilité à l'auxine des coléoptiles d'avoine sont étroitement liées et que la respiration est le facteur préalable de cette série de phénomènes.

c) *Répartition asymétrique de la substance de croissance : tropismes et nasties.*

Le phototropisme et le géotropisme des plantes sont maintenant explicables par une inégale répartition de l'hormone de croissance.

1. — PHOTOTROPISME

Lorsqu'un organe orthotropique contenant de la substance de croissance (coléoptile, tige d'une jeune plante) est exposé à l'influence unilatérale de la lumière, il s'incurve vers la source lumineuse. Pour expliquer la courbure phototropique, on admet que la répartition uniforme de l'hormone est remplacée par une distribution asymétrique avec augmentation sur le côté non éclairé (fig. 13).

WENT (1928) a montré cette inégale répartition en faisant diffuser dans deux blocs d'agar, la substance active contenue dans la pointe du coléoptile éclairé unilatéralement. Le bloc du côté non éclairé reçoit 65 o/o de l'hormone totale, tandis que l'autre n'en emmagasine que 35 o/o.

Mais l'effet primaire de la lumière est inconnu et l'on attribue la répartition asymétrique de la substance, soit à la formation unilatérale d'hormone, soit à une des-

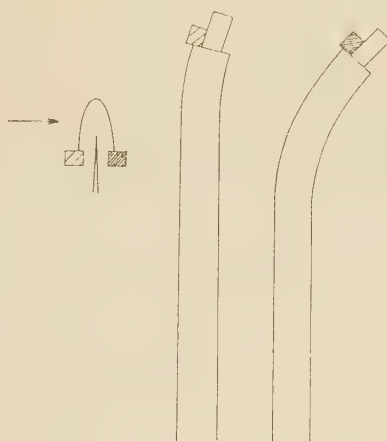


Fig. 13. — Expérience de F. W. WENT montrant l'inégale répartition de l'hormone de croissance dans une pointe de coléoptile éclairée unilatéralement. (La flèche indique la direction de la lumière).

truction unilatérale, soit encore à une diminution du transport sur la face éclairée, soit enfin à un déplacement de l'hormone de croissance comme nous l'avons indiqué plus haut.

Des travaux de BOYSEN-JENSEN, DOLK, DIJKMANN et VAN DER LAAN, KOCH, etc., il semble découler que le déplacement transversal de la substance de croissance constitue la cause essentielle de la répartition inégale.

VAN OVERBEEK cependant défend la thèse de la destruction. Pour lui, l'action des auxines est moindre à la lumière qu'à l'obscurité, la substance hormonale étant détruite sous l'influence d'enzymes. KÖGL, d'autre part, a suggéré récemment qu'il peut se produire aux dépens de l'auxine, sous l'effet de la lumière, une formation partielle de substance inactive, la lumi-auxine- α -lactone. Des recherches optiques et physiologiques s'imposent pour vérifier ce point de vue. Nous rappelons que KOCH a pu (1934) inhiber l'action d'un éclaircissement unilatéral par l'application d'une différence de potentiel électrique (méthode déjà décrite).

2. — GÉOTROPISME

L'expérience montre que lorsqu'un coléoptile, une tige ou une racine, sont maintenus en position horizontale l'hormone de croissance s'accumule dans les tissus de la face inférieure. Cet arrangement inégal de l'auxine, provoqué par une excitation unilatérale de la gravité, a été mis en évidence par DOLK (1929). Sa technique qui est une application de celle de WENT, consiste à recueillir séparément, dans deux blocs d'agar contenant 10 o/o de glucose, l'hormone de croissance émise par les faces opposées de l'organe en expérience. Le bloc inférieur réceptionne toujours la plus grande partie de la substance active diffusée. L'effet activateur de l'hormone sur la croissance de la tige s'affirme par le développement rapide de la face richement pourvue, ce qui détermine le géotropisme négatif. L'action inhibitrice de croissance provoquée par l'auxine sur la racine se traduit par le géotropisme positif de l'organe.

L'effet primaire de la gravité est également inconnu. Il est naturel de penser qu'un tel déplacement de l'hormone ne peut se faire sans énergie. BRAUNER (1930) a mis en évidence la production d'un potentiel géoélectrique sur des tiges et des racines placées horizontalement. La face inférieure devient électropositive par rapport au

côté supérieur. Et l'on a supposé que l'auxine, substance acide, était déplacée sous l'influence d'une différence de potentiel.

Koch a pu aussi inhiber l'effet géotropique consécutif à une excitation unilatérale de la pesanteur en soumettant l'organe à une différence de potentiel, le pôle positif étant appliqué sur la partie supérieure du végétal. Il suffit de tensions de 10 à 100 millivolts pour arrêter presque complètement les courbures géotropiques. Malgré cela, il n'est pas possible, pour l'instant, d'admettre que le transport latéral de l'auxine s'effectue sous l'influence du potentiel géo-électrique entrevu par BRAUNER.

3. — NASTIES

L'application d'une pâte d'hormone sur la face inférieure de la nervure principale d'une jeune feuille de tabac provoque le redressement de la feuille vers le bourgeon (épinastie); l'application, faite à la face supérieure, provoque un abaissement vers le plan horizontal (hyponastie).

III. — Les auxines

« facteurs retardateurs ou inhibiteurs de la croissance ».

Les bourgeons produisent de l'auxine au cours de leur croissance et celle-ci, nous l'avons vu, dépend de cette élaboration. Cependant l'application expérimentale d'auxine à une tige sectionnée de *Vicia faba* (THIMANN et SKOOG, 1934) inhibe la croissance des bourgeons latéraux proportionnellement à la concentration de substance active. Dans le développement normal de la plante, le bourgeon terminal exerce une action analogue sur les bourgeons latéraux ou axillaires, parce qu'il produit de l'auxine en quantité suffisante pour que la concentration devienne inhibitrice. D'autres travaux mettent en évidence cette inhibition. LE FANU (1935) a montré aussi que la croissance du bourgeon principal est empêchée quand on le plonge partiellement dans une solution aqueuse d'hétéroauxine. PEARSE (1937) aboutit aux mêmes conclusions. SNOW (1936) a constaté une inhibition de l'allongement des entre-nœuds de *Pisum*. Enfin, WEBER (1936) trouve que l'acide β -indolylacétique exerce une action antagoniste sur la croissance d'une levure (*Rhodotorula suganii*),

même à dose très minime. Divers auteurs : CHOLODNY (1924); KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN (1934); WENT (1936) et THIMANN (1936 *b*), ont provoqué un arrêt dans la croissance de jeunes racines par l'action d'hormone en solution. D'une manière générale, l'action inhibitrice observée est proportionnelle à la quantité d'auxine apportée expérimentalement.

Mais de récents travaux envisagent la question sous un autre aspect : l'hormone favoriserait la croissance des racines à faible concentration et n'exercerait son rôle inhibiteur qu'à dose assez forte. Déjà W. DAVIES, G. A. ATKINS et P. C. B. HUDSON (1936) avaient remarqué que l'arrêt de la croissance de racines plongées dans une solution d'hétéroauxine ne se manifeste que dans la zone de l'organe en contact avec la liqueur et que, au contraire, le développement est stimulé dans les parties non immergées immédiatement supérieures. Cette observation fait entrevoir le rôle toxique de l'hormone appliquée d'un manière trop massive, et son rôle favorable à dose plus réduite. Par la suite, différents auteurs constatent des faits du même ordre. TH. SOLACOLU et D. CONSTANTINESCO (1936) trouvent que l'hétéroauxine n'exerce une action inhibitrice sur la radicule et la gemmule de jeunes plants de *Ricinus communis* et *Phaseolus vulgaris* qu'à partir d'une certaine concentration. Celle-ci présenterait deux limites : l'une supérieure, au-dessus de laquelle la substance devient toxique, et une autre, inférieure, d'une valeur d'environ 1.10^{-6} , au-dessous de laquelle l'hétéroauxine n'aurait plus d'action favorisante. De même, ils constatent que l'acide β -indolylacétique en solution de 0,01-0,04 o/o diminue la faculté germinative des graines. Des faits de cet ordre sont constatés par W. DAVIES, G. A. ATKINS et P. HUDSON (1937) qui ont étudié la régénération de branches de saules en présence d'acides β -indolylacétique et indolylpropionique. Ce n'est qu'avec des solutions de 1/2.500, ou plus, que ces produits ralentissent ou inhibent la régénération. A un titre inférieur, ils sont parfaitement efficaces.

D'autre part, BEAL (1937), en Amérique, a pu constater que dans certains cas l'hétéroauxine appliquée sous forme de pâte à la lanoline pouvait réveiller la poussée de bourgeons dormants des bulbilles de lis.

Mais c'est H. V. AMLONG (1937) qui apporte les conclusions les plus précises. A la suite d'expériences nombreuses, il a établi que toutes les parties du végétal ont une croissance stimulée par l'apport

de solutions d'auxine, à condition toutefois que la concentration soit faible. Seules les doses trop élevées peuvent avoir sur certains organes un effet inhibiteur. Pour AMLONG, les réactions opposées de la tige et de la racine seraient uniquement dues à des différences quantitatives et non pas qualitatives. La racine, extrêmement sensible à l'auxine, réagit d'une manière contraire parce que la dose, qui est optima pour la tige, devient inhibitrice pour elle. Cette conception est d'autant plus vraisemblable que l'action inhibitrice signalée par certains auteurs relève en général d'expériences conduites sur des racines très courtes et très jeunes où, par conséquent, l'excitation hormonale s'est faite sur des régions méristématiques dont les cellules embryonnaires sont richement pourvues en auxines. La teneur élevée en matières actives, et le caractère embryonnaire de la zone proximale de la racine, expliqueraient aussi l'observation de DAVIES, ATKINS et HUDSON, rapportée précédemment.

IV. — *Les auxines*

« *facteurs de multiplication cellulaire* ».

Divers travaux, en particulier ceux de JOST (1935 *a, b*) et de BROWN (1937), ont montré que les substances qui déterminent l'élongation cellulaire sont capables aussi d'exercer une action stimulatrice sur les mitoses des cellules. JOST conclut que c'est l'état physiologique des tissus sur lesquels l'hormone est appliquée qui décide de la réaction de l'auxine, et que la quantité de cette dernière est plutôt secondaire. La concentration de l'auxine joue, malgré tout, un rôle. A une concentration de 1.10^{-8} , elle agit dans le sens de l'élongation ; des concentrations beaucoup plus élevées déterminent l'inhibition de l'élongation et l'épaississement des organes en direction radiale (sans division cellulaire). A 1.10^{-3} ou 1.10^{-4} , elle provoque la multiplication cellulaire et une croissance secondaire en épaisseur.

Les recherches de SNOW et LE FANU (1935) sur l'*Helianthus*, de KRAUSS (1937) sur les tiges de haricot, et de BROWN et GARDNER (1937) sur des rameaux de *Populus*, ont montré que l'auxine *a* et l'acide β -indolylacétique exercent une action sur les mitoses dans les tissus à caractères méristématiques. Des applications d'hormone provoquent l'épaississement des tiges en agissant sur les divisions cellulaires du cambium. Cette activité cambiale peut se manifester,

comme l'a montré LAIBACH (1935), en appliquant une pâte d'auxine sur la section d'un hypocotyle décapité de *Vicia faba*, par l'apparition de cals et aussi par la néoformation de racines nombreuses sur les racines, les tiges et les feuilles (WENT, 1934 ; THIMANN et WENT, 1934 ; THIMANN et KOEPFLI, 1935 ; LAIBACH, 1935). D'après SOLACOLU et CONSTANTINESCO (1937), une solution d'hétéroauxine de 0,01-0,04 o/o fait apparaître, sur toute la plante de *Cucurbita*, des radicules qui ne respectent plus les lois de la polarité. Ces racines surnuméraires se produisent aux endroits où les faisceaux vasculaires sont en contact direct avec l'hétéroauxine.

Un travail important de R. GAUTHERET (1938) montre que l'on peut stimuler la prolifération des cultures de tissu cambial de *Salix caprea* par adjonction au milieu approprié d'une faible quantité d'hétéroauxine et réaliser la formation de tissu nouveau pendant l'hiver, alors que la croissance normale a cessé. La dose optimale de l'hétéroauxine 1.10^{-8} est inférieure à celle d'autres substances excito-formatrices (chlorhydrate de cystéine 1.10^{-5} , vitamine B₁ 1.10^{-6}).

Des travaux plus récents du même auteur (1939 a, 1939 b) mettent en évidence l'action de l'acide indol-3-acétique sur la culture *in vitro* de tissus provenant de tubercules de carotte. Elle serait variable et se traduirait, suivant les doses croissantes employées, d'abord par une excitation de la multiplication cellulaire qui correspond à la formation d'assises génératrices, puis par la production de radicules et finalement de cellules géantes incapables de se diviser. GAUTHERET considère que la concentration de 0,000001, laquelle n'agit presque uniquement que sur la prolifération des cellules, peut être désignée *a priori* comme favorable à la culture des tissus. Dans une autre communication (1939), il attribue la croissance rapide que manifestent les tissus de chou-rave cultivés *in vitro* à leur richesse naturelle en hétéroauxine.

Enfin, L. DUHAMET (1939) décèle également l'effet variable qu'exerce l'hétéroauxine sur des racines isolées de *Lupinus albus*. Il est inhibiteur à dose trop élevée, alors qu'il est accélérateur à faible concentration. L'action physiologique de l'hétéroauxine déterminerait non seulement la croissance cellulaire mais, et c'est là un fait qui n'avait jamais été démontré d'une manière précise, elle déclencherait la prolifération des méristèmes radiculaires.

D'autres formations ont été réalisées sous l'effet de l'hétéro-

auxine. CHOUARD (1938) a provoqué sur différentes plantes (*Begonia rex*, *Alloplectus Lynchii*) la production expérimentale de bourgeons, et l'apparition de poils absorbants sur l'épiderme de feuilles de *Begonia rex*. Pour l'auteur, toutes ces néoformations, naturelles ou provoquées, commencent par une hypertrophie des tissus qui aboutit à une tumeur organisée, laquelle évolue ensuite en racines ou en bourgeons, après avoir créé un centre d'appel des produits les plus divers du métabolisme de la feuille. Ainsi les auxines et l'hétéroauxine seraient les stimulants incontestables de cette première phase. Par la suite, d'autres facteurs interviendraient dans la différenciation des ébauches. Autrement dit, l'apparition des racines latérales n'est qu'en relation indirecte avec les auxines, et ces dernières ne seraient pas, à proprement parler, des organisateurs de structure.

GUSTAFSON (1936) a provoqué des phénomènes de parthénocarpie chez la tomate. Il a obtenu des péricarpes juteux de tomate sans fécondation, en traitant le pistil par de la lanoline contenant soit de l'hétéroauxine, soit d'autres acides voisins (indol-3-propionique, indolylbutyrique, etc.). La teneur en eau de ces fruits est plus élevée que celle des fruits normaux (0,3 0/0). DOLLFUS (1936) a montré aussi que, sous l'influence d'auxine, l'ovaire se développe plus rapidement. D'autre part, F. GARDNER et P. C. MARTH (1937) ont réalisé sur le houx (*Ilex opaca*), la production de fruits parthénocarpiques par arrosage des fleurs avec des solutions d'acides variés (acides indolylacétique, indolylbutyrique, indolylpropionique et naphthalénacétique). Les concentrations, variant entre 1.10^{-8} et 1.10^{-6} , ont montré que ce dernier acide est le plus actif. Les fruits issus de fleurs non fécondées, comparés à ceux formés par pollinisation, apparaissent comme normaux. Des résultats identiques ont été enregistrés en humectant simplement le sol avec des solutions plus fortes (0,15 : 100), mais dans ce cas les fruits sont moins nombreux.

L'hétéroauxine serait aussi une substance cancérogène. A la suite de beaux travaux, ERWIN SMITH (1920) put isoler l'agent infectieux du *crown-gall* et démontrer son rôle dans la formation bien connue en pathologie végétale. Déjà à cette époque, il indiquait que *Bacterium tumefaciens* stimule la croissance et provoque la néoplasie et l'hyperplasie des cellules par l'intermédiaire de certains produits de son métabolisme, tels que l'acide acétique ou des

acides voisins. Cette conception a reçu, de nombreux essais expérimentaux, une confirmation éclatante. KRAUSS, BROWN et HAMMER (1936), ont été les premiers à étudier à ce point de vue l'action de l'acide β -indolylacétique sur de jeunes plantules de haricot. Les tigelles sont décapitées au troisième internœud et la plaie est recouverte d'une pâte d'hétéroauxine à base de lanoline. Ils ont pu suivre les réactions histologiques des différents tissus : écorce, parenchyme cortical, endoderme, parenchyme libérien et moelle. Celles-ci sont comparables aux réactions néoplasiques obtenues en inoculant à de jeunes plants de haricot et de tomate les produits d'extraction de tumeurs engendrées par *Bacillus tumefaciens*. Des conclusions analogues sont apportées par différents auteurs : BROWN et GARDNER (1936) ; LINK et WILCOX (1937). D'autre part, A. BERTHELOT et G. AMOUREUX (1936) ont provoqué, à l'aide d'hétéroauxine, l'apparition de tumeurs identiques sur les plantes de soleil cultivées aseptiquement. Ils viennent, en outre, de prouver (1938 a) que *Bacterium tumefaciens* détermine rapidement la formation d'acide β -indolylacétique aux dépens du tryptophane. Ce dérivé de l'indol est, dans leur technique, caractérisé chimiquement par une réaction colorée (ClH et $\text{Cl}^{\text{e}}\text{Fe}^3$) et par son spectre d'absorption comparé à celui de l'acide synthétique. Toutes ces recherches mettent en valeur le rôle actif que peut jouer l'acide β -indolylacétique dans la genèse des tumeurs engendrées par le *Bacterium tumefaciens*. A titre d'hypothèse, A. BERTHELOT et G. AMOUREUX se demandent si l'immunité que présentent certaines espèces végétales à l'égard de la bactérie d'ERWIN SMITH ne serait pas due en partie à une teneur exceptionnellement faible de leurs sucs cellulaires en tryptophane.

L'étude des tumeurs provoquées par l'action de l'hétéroauxine et de quelques acides voisins, appliqués sous forme de pâte sur un matériel varié (*Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Ricinus communis*), montre également que ces produits déterminent une mauvaise différenciation des éléments cellulaires nouveaux, des malformations et des inclusions de tissus (1) (TH. SOLACOLU et D. CONSTANTIN-

(1) L'examen des tissus proliférés a été effectué sur des coupes fixées d'après les méthodes de BOUIN et de REGAUD, et colorées à l'hématoxyline ferrique, et aussi d'après des colorations vitales. Les tissus de la tumeur sont allongés et ils offrent l'aspect de filaments mycéliens. Leurs cellulès, munies d'une membrane très mince, sont pourvues de grandes vacuoles mais sont pauvres en mitochondries.

nesco, 1936-1937; TH. SOLACOLU, D. CONSTANTINESCO et M. CONSTANTINESCO, 1938).

De récents travaux de THIMANN (1936 a) ont pu également révéler l'existence d'une hormone d'élongation cellulaire dans les nodosités des légumineuses en pleine croissance. La matière active serait élaborée par les bactéries nitrifiantes. Par apposition de gélose contenant de l'acide β -indolylacétique sur des racines, THIMANN a provoqué des épaisissements bien caractéristiques, dus à l'élongation radiale des cellules corticales et à la division des cellules du cambium et du péricycle. Ces excroissances rappellent celles qu'obtint M. MOLLIARD par l'application d'un filtrat stérile de cultures nodogènes. Ainsi la bactérie *Rhizobium leguminosarum* forme en abondance de l'acide β -indolylacétique, dont l'action sur les tissus des racines permet d'expliquer la morphogénèse des nodosités.

Résumé du chapitre V.

Il paraît nettement établi que les processus biologiques de la croissance chez les végétaux supérieurs sont amorcés et régis par l'auxine qui est élaborée surtout dans les parties apicales de la plante.

Le mécanisme d'action de cette hormone, comme facteur d'élongation cellulaire, intimement lié à l'activité respiratoire du végétal, puisque la croissance ne peut se faire qu'en présence d'oxygène, s'effectue en dernier lieu sur la paroi glucidique de la cellule dont les propriétés plastiques sont considérablement accrues.

Dans cette phase stimulatrice d'élongation, l'hormone agit sur des tissus cellulaires qui ne sont plus méristématiques.

La répartition de l'auxine modifiée par les agents physico-chimiques externes, et l'allongement unilatéral qui s'ensuit, permettent de comprendre les tropismes végétaux.

Les effets divers obtenus par l'emploi de concentrations assez fortes sur des tissus méristématiques et cambiaux dont les cellules sont en voie de division montrent le rôle que l'on peut attribuer à ces matières comme excitants physico-chimiques de l'activité mitotique.

La découverte des auxines qui permet d'interpréter dans ses

grandes lignes la formation des hypertrophies, hyperplasies, néoplasies, ouvre également des possibilités nouvelles en pathologie végétale.

Enfin, les phénomènes corrélatifs réalisés par l'apport expérimental d'auxine, soit sur le développement des organes végétatifs, soit sur la formation des organes floraux, montrent l'importance de cette substance comme régulateur fonctionnel, comme « messenger chimique », et éclairent d'un jour nouveau le problème de l'unité dynamique des organes de la plante.

DEUXIÈME PARTIE

LES AUXINES DANS LE RÈGNE ANIMAL

A. — HISTORIQUE

a) *Leur présence dans les tissus et les sécrétions animales.*

Dès 1925, ELISABETH SEUBERT montre qu'un bloc d'agar contenant de la salive non diluée provoque, s'il est appliqué sur toute la surface de section d'un coléoptile d'avoine décapité, une croissance très active qui dépasse celle de la plantule intacte. Si le fragment de gélose est placé sur le côté de la souche, il détermine une courbure bien visible. L'auteur constate que la pepsine exerce une action identique à celle de la salive et, finalement, attribue aux deux sécrétions animales étudiées un rôle de régulateur de croissance qui se manifeste encore quand celles-ci ont été soumises à l'ébullition.

Quelques années plus tard, BOYSEN-JENSEN (1931) découvre que le corps actif contenu dans la salive a une origine bactérienne et KÖGL (1933) l'identifie à l'hétéroauxine ou acide β -indolylacétique. Les expériences de E. SEUBERT restent néanmoins importantes car elles ont eu le grand mérite de mettre en évidence que des substances susceptibles de contrôler la croissance des plantes peuvent se rencontrer dans l'organisme animal.

L'examen systématique des excréments et des tissus du *chien*, entrepris d'abord par KÖGL et HAAGEN-SMIT (1931), et poursuivi par eux en collaboration de H. ERXLEBEN (1933), a montré que la plupart des organes renferment de petites quantités d'auxine. Elles abondent nettement dans le rein et l'urine, dans le côlon et son contenu. Par contre, le tissu musculaire du chien apparaît comme dépourvu d'auxine. Il en est de même de celui de l'homme. L'urine humaine,

très riche est, pour KÖGL, la source la plus importante de facteurs de croissance. L'homme éliminerait journallement de 1 à 3 milligrammes d'auxine dont une partie proviendrait des aliments. L'hormone trouvée serait représentée par 80 o/o d'auxine *a* et 20 o/o d'acide β -indolylacétique résultant des fermentations bactériennes intestinales.

La quantité de substances de croissance émise par l'organisme humain n'est, d'après KÖGL, en relation ni avec l'âge de l'individu, ni avec le sexe. Chez la femme, pendant la grossesse, la quantité d'hormone auxinique n'est pas non plus modifiée. Celle-ci reste également constante au cours du cycle menstruel; il n'y a donc pas, comme pour la folliculine, une oscillation périodique.

E. MASCHMANN (1932) a pu isoler des *tumeurs malignes*, des *carcinomes* et *sarcomes* de *souris*, et des *sarcomes* de *poulet*, une substance capable de provoquer l'élongation cellulaire des coléoptiles d'avoine décapités. La matière active qu'il extrait est soluble dans l'eau, les alcools méthylique et éthylique, l'acétone et l'éther; elle est par contre insoluble dans l'éther de pétrole et la benzine. Parfaitement stable à la chaleur, elle serait caractérisée au point de vue chimique par son caractère faiblement acide et par l'existence dans sa molécule de doubles liaisons aliphatiques. Ces dernières auraient une grande signification dans l'action physiologique du produit. L'auteur souligne, en outre, un parallélisme étroit entre la quantité de substances contenue dans les tumeurs et la faculté de croissance de celles-ci. Sa thèse est établie sur le fait qu'il a pu extraire de carcinomes de souris âgés de quatorze jours, et ne présentant que de faibles nécroses, deux fois plus de matières actives que de carcinomes âgés de vingt-cinq jours et fortement nécrosés. Sans tirer de conclusions précises quant à la fonction qui pourrait être attribuée à l'hormone d'élongation cellulaire dans le développement des tumeurs, MASCHMANN pose un certain nombre de problèmes: il se demande si l'hormone n'agirait pas, soit par une élévation de la turgescence cellulaire, soit par une modification de la perméabilité de la cellule, ou bien encore par une activation de la multiplication cellulaire. La dernière supposition ne lui paraît pas insoutenable, étant donné que la substance extraite de la pointe du coléoptile d'avoine provoque chez les levures une multiplication active des cellules. Ainsi, il se pourrait, d'après cet auteur, que la division cellulaire se prolonge dans les tumeurs sous l'action de la

substance de croissance venant de l'organisme ou, ce qui est plus probable, produite par les cellules du cancer. Cette possibilité expliquerait la croissance désordonnée des tumeurs.

KÖGL et ses collaborateurs trouvent également des quantités importantes d'auxine dans les *carcinomes humains* : 1 gramme de tissu malade en contiendrait 1/10 de γ . Par contre, il ne leur a pas été possible d'établir une relation entre la teneur en hormone des carcinomes du rat et l'évolution rapide de ceux-ci (KÖGL, HAAGEN-SMIT et TÖNNIS, 1933).

La présence de l'auxine est établie encore par E. MASCHMANN et F. LAIBACH (1933), sous la forme d'un acide non saturé, dans différents organes et tissus d'animaux : sang, muscle, squelette, etc. Ils en trouvent dans le foie et le rein (dans ce dernier organe surtout) du *cobaye* et du *lapin*, dans les poumons du *lapin*, la glande thyroïde du *porc*, le thymus du *veau*, le testicule du *taureau* et le pancréas du *bœuf*.

Par la suite, NAVEZ et KROPP (1934), puis KROPP et CROZIER (1934), montrent que la substance excitatrice des chromatophores extraite du pédoncule oculaire de *Palaemonetes*, accroît la vitesse d'allongement des souches décapitées de coléoptiles d'avoine.

Un peu plus tard (1935), nous avons exposé les premiers résultats de nos recherches, entreprises avec M. ROSE, sur la présence de substances du type auxine dans les embryons de *Discoglosse*. Dans la même communication, se trouvent relatés des faits préliminaires concernant le développement de l'œuf de *poule* et d'*oursin*.

Deux ans après, ROBINSON et WOODSIDE (1937) signalent la formation d'auxine dans l'*embryon de poulet*.

b) *Leur origine.*

Au cours de leur étude sur la recherche de l'auxine dans les tissus animaux, MASCHMANN et LAIBACH (1933), après avoir décelé la substance active dans diverses graines et dans le pain, suggèrent que c'est dans les aliments : céréales, farines et leurs dérivés, que serait, pour les herbivores et l'homme, la source la plus importante des corps de croissance. Ils montrent également que, chez des cobayes soumis à un jeûne total, les organes contiennent, au bout de 4 à 7 jours, moins d'auxine que chez les animaux nourris normalement.

Mais c'est à Kögl et à ses élèves que l'on doit la mise au point la plus complète. D'abord, ils observent que l'avitaminose A ne semble pas modifier la teneur en auxine dans l'organisme animal : l'urine de rats carencés contient la même quantité d'hormone que celle d'animaux soumis à une alimentation complète. HAAGEN-SMIT recherche la quantité d'auxine qui se trouve dans l'urine émise aux différentes heures de la journée et trouve qu'un maximum très précis apparaît à huit heures du soir, c'est-à-dire deux heures après le repas principal — qui est pris en Hollande à six heures —. Si celui-ci est déplacé à une heure, le « sommet d'auxine » se déplace lui aussi et s'observe à trois heures. Ainsi donc, deux heures après le repas, la quantité d'hormone de croissance est subitement élevée. Par contre, le jeûne ne supprime pas la substance active mais la présence de celle-ci se manifeste d'une manière uniforme dans l'urine émise au cours de la journée. HAAGEN-SMIT signale en outre des rapports nets entre la nature des aliments ingérés et la production d'auxine. Si l'alimentation est constituée uniquement d'eau et de sucre, de raisin, de fécule, ou bien encore de blanc d'œuf, le « sommet d'auxine » n'est plus visible. Pour le rétablir il suffit d'absorber, le jour d'expérience suivant, 100 centimètres cubes d'huile de salade. Celle-ci cependant ne contient pas d'auxine libre, mais seulement un ester. Dès lors, KÖGL eut l'idée de saponifier diverses huiles de graines dans le but de libérer de petites quantités de substances de croissance. La saponification de l'ester d'auxine se révéla dès le début difficile, mais le savant hollandais obtint de bons résultats en utilisant des catalyseurs biologiques (lipases). Les acides minéraux lui donnèrent un moins bon rendement et l'emploi de solutions alcalines le conduisit invariablement à des produits inactifs. Il put établir d'une manière formelle que la saponification des huiles végétales aboutit à la formation d'auxine, en quantité plus ou moins grande suivant l'origine de ces huiles.

Le comportement des graisses animales est à peu près identique. Les méthodes physiologiques et chimiques montrent que les graisses animales peuvent libérer de l'hormone de croissance. En effet, l'ingestion d'une certaine quantité de beurre est marquée par l'apparition dans l'urine d'un « sommet d'auxine », lequel est cependant plus faible que celui qui est observé après l'absorption d'une même quantité d'huile de salade. Ceci est conforme à ce que l'on observe

in vitro : par saponification, le beurre cède une quantité de substance active moins importante que l'huile.

Diverses graisses animales ont donné des résultats analogues mais de moindre importance. Par contre l'administration, au cours d'une journée d'expérience, de graisse de coco, laquelle est dépourvue d'auxine libre et d'ester d'auxine, ne provoque jamais l'apparition d'une quantité maximum d'hormone à un moment donné. Les faits se déroulent comme dans une journée de jeûne complet.

Comme conclusion à ses travaux, KÖGL suggère que la substance de croissance présente dans l'organisme animal est d'origine alimentaire, végétale surtout, et qu'elle serait séparée dans l'organisme au cours des phénomènes chimiques de la digestion. Il admet également que cette hormone active est probablement identique à l'auxine extraite de l'urine. Néanmoins, il n'exclut pas l'idée que la cellule animale serait elle-même capable de synthétiser la substance de croissance.

c) *Rôle de l'auxine dans la croissance de l'organisme animal et de sa cellule.*

La présence d'une grande quantité d'auxine dans l'urine, dérivée en partie de la nourriture, en partie d'une action bactérienne intestinale, amène à réfuter, au moins *a priori*, toute signification physiologique à l'auxine rencontrée dans la matière animale. D'ailleurs, les résultats des premiers travaux entrepris dans le but de déceler une action de cette hormone sur la croissance des animaux semblent corroborer cette opinion.

En effet KÖGL, HAAGEN-SMIT et TÖNNIS (1933) ont constaté que l'administration de substances de croissance à l'état pur et cristallisé, à de jeunes têtards de batraciens, ne modifie pas le cycle des métamorphoses, ni la taille des individus et que l'injection de petites quantités d'auxine, sous la même forme, à de jeunes rats, reste aussi sans influence sur leur croissance. Ils ne peuvent non plus déceler une action favorisante, même faible, sur le développement de cultures de tissus animaux (fibroblastes du cœur de poulet) par l'addition de préparations pures d'auxine.

Dans un autre domaine, les conclusions de NAVEZ et KROPP (1934) sont identiques. Ils n'ont jamais pu remarquer une action réelle de

la substance auxinique des plantes, sur les chromatophores des crustacés.

Tels sont les résultats publiés jusqu'à ces toutes dernières années. Mais des travaux plus récents, de M. RAMSEYER et R. MARTIN DU PAN (1935), mettent en évidence une certaine action des hormones de croissance végétales sur le développement des germes de batraciens. Ces auteurs utilisent comme source d'auxine des *pollinies d'orchidées* qu'ils incorporent à un gel d'agar. Après avoir vérifié l'activité physiologique de la préparation sur un test plante, ils introduisent de petites parcelles de cette gélose desséchée sous l'ectoderme d'œufs de batraciens (10 de *Triton alpestris* et 5 de *Bombinator pachypus*). A la suite de l'opération, la plupart des œufs meurent, mais chez deux larves de *Bombinator pachypus*, qui ont pu survivre et poursuivre leur développement, les auteurs voient apparaître dès le troisième jour, une excroissance située au niveau de l'implantation et due à la prolifération plus ou moins désordonnée de l'épiderme. Il n'y a dans aucun cas trace d'induction d'un second individu.

En appliquant l'auxine à un stade plus avancé de la segmentation, — blastules de *Bombinator pachypus* —, ils provoquent une accélération dans la fermeture du tube nerveux ; celle-ci se réalise en vingt-quatre heures. Les témoins placés dans des conditions identiques sont un peu plus volumineux, mais le tube neural est encore ouvert. Cependant la différence de taille observée ne persiste pas, et aux stades ultérieurs du développement il devient impossible de déceler une action des auxines sur la croissance de la larve. Ainsi, d'après M. RAMSEYER et R. MARTIN DU PAN, les hormones de croissance végétales agissent sur les germes de batraciens en provoquant des multiplications cellulaires et en accélérant les premiers stades de développement.

A ces résultats, peut-être un peu fragmentaires, ils ajoutent par la suite (1937) des conclusions relatives à l'action exercée par l'auxine sur les tissus animaux cultivés *in vitro*. La source hormonale est la même. Les tissus animaux, — fibroblastes prélevés dans le mésenchyme des membres d'embryon de poulet âgé de cinq jours —, sont cultivés en goutte pendante. Le milieu de culture est un mélange à parties égales de plasma de cobaye et d'extrait embryonnaire de poulet, dilué six fois environ avec une solution de Ringer. Si l'on ajoute aux cultures un fragment d'agar conte-

nant de l'auxine, le début de la croissance est manifestement plus précoce et plus vigoureux que chez les témoins cultivés en milieu sans hormone. Ainsi, au bout de quatre à cinq heures, une culture mise en présence de substances actives est déjà aussi développée qu'une culture témoin âgée de dix heures. Au bout de quinze à vingt heures, les cultures avec auxine présentent des plaques de croissance dont la largeur est à peu près le double de celles qui sont observées chez les témoins. A ce moment, l'action de l'hormone paraît ne plus s'exercer et M. RAMSEYER et R. MARTIN DU PAN admettent qu'elle a été détruite.

De plus, ils constatent dans certaines cultures une zone de croissance qui se dirige activement vers l'agar comme si elle était polarisée par ce dernier. Ces bandes orientées vers l'agar sont une fois et demie à sept fois plus larges que celles qui se développent à l'opposé du bloc. Ce phénomène s'expliquerait par le fait que les fibroblastes prolifèrent pendant que les hormones diffusent du bloc de gélose (1).

Dans les autres cas, la croissance ne se manifesterait que lorsque l'auxine est répartie d'une manière à peu près uniforme dans le milieu de culture; il y aurait une multiplication plus intense mais égale sur tous les côtés.

Enfin, dans la totalité des faits observés, il n'y a pas de modification portant sur la forme et la dimension des fibroblastes soumis à l'action des substances de croissance végétales.

En somme, l'hormone des pollinies d'orchidées favorise la croissance des fibroblastes de poulet sans altérer leur forme, et provoque une véritable orientation des cellules en voie de multiplication.

Mais les expériences de RAMSEYER et MARTIN DU PAN ne sont pas à l'abri de toute critique. L'introduction du gel d'agar contenant les pollinies d'orchidées dans le milieu nutritif apporte, du même coup, non seulement les substances de croissance végétales typi-

(1) On pourrait croire aussi que l'orientation des cellules en culture se ferait comme l'a suggéré O. DUGGELI (1936) sous l'influence d'états de tension mécanique, mais les auteurs n'admettent pas que le bloc de gélose puisse par son poids réaliser une orientation micellaire dans le coagulum, car les résultats d'expériences ne sont pas modifiés lorsque le cube d'agar est soulevé à l'aide de fines aiguilles. De plus, des fragments de gel sans auxine, placés dans les mêmes conditions, ne provoquent jamais d'orientation, ou de croissance exagérée, des fibroblastes en culture.

ques, mais, incontestablement, d'autres phytohormones qui, à un degré plus ou moins grand, sont susceptibles d'exercer une action favorable sur la croissance des cellules embryonnaires animales. D'ailleurs, ces auteurs constatent que ces hormones végétales n'influencent ni la forme ni la dimension des fibroblastes, conclusions qui ne sont pas conformes aux effets observés sur la cellule végétale. De plus, l'auxine agit très rapidement sur les cellules de la plante ; or, ce n'est qu'au bout de quatre à cinq heures qu'ils constatent, ou du moins signalent, une activation dans le taux de croissance des cultures.

Néanmoins, on connaît des substances chimiques qui peuvent exciter la multiplication et la croissance des éléments élastiques dans les cultures de tissus *in vitro*. Tels sont : le glyocolle, le tryptophane, l'acide phényl- β -alanine, l'acide glutamique, qui appartiennent à la série des acides aminés. D. ODIETTE (1932) a pu montrer leur action positive sur des fragments d'aorte, de cœur, de peau, d'embryon de poulet, cultivés sur plasma ou sérum suivant la technique de FISCHER dite « vie au ralenti », et qui se traduit à la fois par leur augmentation numérique et par un volume plus considérable. L'auteur constate en outre que l'acide phényl- β -alanine, dont la structure chimique est voisine de celle de l'acide phényl- α -alanine, exerce un effet opposé et que le glutathion, bien que formé de glyocolle et d'acide glutamique, substances actives, ne stimule ni la croissance ni la multiplication parce qu'il contient aussi de la cystéine, matière inhibitrice. Ainsi, de faibles écarts dans la structure chimique des acides aminés entraînent des résultats différents. Plus récemment, les recherches de J. VERNE et KUBIKOWSKI (1936) mettent en évidence l'effet activateur de croissance que provoque l'adjonction de faibles quantités de scatol au milieu de culture où se développent des tissus animaux. L'addition de 1/150.000 de scatol excite l'activité des fibroblastes du cœur d'embryon de poulet et des cellules rénales de rats nouveau-nés. Il est regrettable qu'aucun essai de ce genre n'ait été entrepris, du moins à notre connaissance, pour rechercher si l'acide β -indolyl-acétique était capable lui aussi d'exercer une action positive.

B. — RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE ET CONDITIONS GÉNÉRALES DE TRAVAIL

C'est en 1933 que nous avons entrepris nos premières recherches. Déjà à cette époque, plusieurs tests étaient couramment employés pour la détermination quantitative des auxines végétales ⁽¹⁾. Basés sur l'effet essentiel de l'auxine, qui est de stimuler la croissance végétale par simple élongation cellulaire, ils utilisent presque tous le coléoptile d'avoine, — l'organe vert cylindrique et creux en forme de doigt de gant, qui apparaît peu après la racine primaire au début de la germination. Cet étui protecteur dans lequel se développe la feuille primaire a, d'après TETLEY et PRIESTLEY (1927), une croissance très particulière. Lorsqu'il atteint une longueur voisine de 6 centimètres, il ne présente plus, à partir d'une faible distance de la pointe, d'activité mitotique. De même, AVERY et BURKHOLDER (1936) ont vérifié que les divisions cellulaires ne se manifestent que dans les stades initiaux du développement et cessent avant l'acquisition de la taille à laquelle le coléoptile est utilisé pour les épreuves d'hormones. Par conséquent, la croissance constatée à la suite d'un apport expérimental d'auxine sur une souche décapitée concerne uniquement l'élongation cellulaire, jamais la prolifération.

Parmi les tests qui étaient utilisés à ce jour, notre choix, — que nous avons justifié précédemment ⁽²⁾ —, s'est porté sur celui de F. W. WENT (1927). Le principe très simple de cette méthode découle des expériences déjà anciennes de PAÁL (1914). L'hormone est recueillie dans un bloc d'agar qui est porté latéralement sur la surface de section d'une souche décapitée. L'auxine diffusant sur un seul côté, celui-ci croît d'une façon privilégiée et la souche

(1) Voir I^{re} Partie, Chapitre II, B. Les tests de réaction.

(2) Voir I^{re} Partie, Chapitre II, C.

s'incurve du côté opposé au cube de gélose. L'intensité de la courbure permet d'évaluer approximativement l'activité du produit qui diffuse de l'agar.

Les opérations doivent être conduites en cabinet noir, sous certaines conditions de température et d'humidité. WENT et d'autres chercheurs travaillent dans des salles spécialement aménagées où, à l'aide de thermostats et d'humidificateurs, ils maintiennent facilement une température de 25° C. et un état hygrométrique voisin de 90 o/o.

Dans le laboratoire non spécialisé où nous avons poursuivi nos essais, nous avons cherché autant que possible à réaliser des conditions constantes de température et d'humidité.

Nous allons successivement indiquer l'organisation de notre cabinet d'expériences et les détails de la technique suivie.

1. — MATÉRIEL

a) *Le cabinet noir.*

Toutes les opérations relatives au test avoine de WENT : culture des plantules, décapitation des coléoptiles, essai de l'hormone sur les plantes de réaction, doivent s'effectuer à une température voisine de 25° C., et à l'obscurité⁽¹⁾. Cependant, il a été montré depuis peu que ce dernier chiffre est légèrement supérieur à celui de la température optimale où le coléoptile est doué de la plus grande sensibilité vis-à-vis de l'auxine.

Dès le début de nos recherches, nous avons renoncé à l'idée d'une installation modèle avec thermostat, qui nous aurait permis de travailler dans ces mêmes conditions très précises, l'outillage nécessaire atteignant un prix élevé. Néanmoins, nous nous sommes efforcé d'exécuter nos expériences sous des constantes physiques aussi peu variables que possible, et nous avons organisé à cet effet le cabinet photographique de la Station zoologique d'Alger ; ce dernier, par son exposition à l'abri des vents et sa situation au milieu de pièces qui l'isolent, jouit d'une température privilégiée,

(1) SÖDING (1935) a utilisé le test avoine à la lumière du jour diffuse et à une température non contrôlée. Mais d'après VAN OVERBEEK, nous l'avons déjà dit (I^{re} Partie, Chapitre II, B), les plantes sont, dans ces conditions expérimentales, beaucoup moins sensibles.

laquelle se maintient pendant la majeure partie de l'année entre 18 et 21°. Grâce à cette température assez élevée, le développement des plantes de réaction est régulier et suffisamment rapide.

Nous avons aménagé là, contre le mur et à hauteur d'homme, trois coffres s'ouvrant en avant de bas en haut; la porte, de périmètre plus grand, une fois rabattue, aucune infiltration de lumière n'est à craindre. A l'intérieur de ces placards, des rayons permettent de disposer les plantes d'avoine en culture. En temps normal, la porte est maintenue relevée.

Une petite pièce sombre précède le cabinet, le séparant du reste du laboratoire; deux portes sont donc à ouvrir pour accéder à la salle d'expériences, et le jeu de ces portes permet d'entrer ou de sortir à tout instant sans risquer d'influencer phototropiquement les plantes en culture. Quand on veut aérer le cabinet, les placards sont fermés; si la température est élevée, on ouvre la fenêtre du cabinet même qui donne dans une cour intérieure; dans le cas contraire, on se contente d'ouvrir les deux portes qui le font communiquer avec l'intérieur du laboratoire. Ainsi, nous avons toujours obtenu des coléoptyles sains et vigoureux.

Contre le mur, se trouve une table de travail très longue où l'on peut aligner toutes les plantes en expériences; ce meuble est suffisamment haut pour que l'opérateur assis puisse s'accouder, attitude qui facilite la décapitation des plantules et la pose des blocs d'agar.

b) *Eclairage.*

Les jeunes plantules cultivées à l'obscurité sont particulièrement sensibles à la lumière. D'après BLAAUW, qui a étudié expérimentalement les réactions du coléoptile d'avoine, l'amplitude des réponses est en relation avec la longueur d'onde et ce sont les radiations de longueur d'onde comprises entre 500 et 465 $\mu\mu$ qui sont les plus efficaces.

Il est donc indispensable d'utiliser seulement la lumière rouge qui est inactive phototropiquement ⁽¹⁾.

La lampe que nous avons adoptée, et qui nous a paru très com-

(1) L'utilisation de la lumière orangée, préconisée par divers auteurs, n'est pas à recommander, celle-ci n'étant pas complètement neutre (KÖGL, HAAGEN-SMIT et HUXLEY, 1936).

mode, a une forme spéciale. L'ampoule rouge montée sur un col de cygne est maintenue horizontalement. Elle est entourée d'un manchon en verre, également rouge, recouvert de papier noir opaque sauf dans la partie inférieure. Dans ces conditions, la lumière rouge émise par la lampe s'étale en un large faisceau qui est dirigé uniquement sur la table où l'on travaille. Les yeux placés entièrement dans l'obscurité ne sont pas gênés.

c) *Chambres humides.*

Malgré l'humidité de l'air, qui est très élevée sur la côte algérienne, nous avons constaté au cours d'essais préliminaires que les blocs d'agar portés sur les coléoptiles se dessèchent très souvent avant que les substances de croissance aient eu le temps de pénétrer dans les plantules de réaction. La gélose diminue de volume et il en résulte une solution de continuité entre le bloc d'agar et la section de la souche. Pour parer à cet inconvénient, nous avons réalisé des chambres humides. Les plantules en expérience sont recouvertes d'une cloche de verre à l'intérieur de laquelle une humidité satisfaisante est assurée par du papier-buvard ou du coton imbibé d'eau. Des précautions sont cependant à prendre : si l'humidité provoquée est excessive, une exsudation d'eau, qui entraîne le bloc de gélose et l'hormone de croissance, peut se produire à la surface de section. Par tâtonnement, on arrive très bien à maintenir l'humidité convenable dans les cloches.

d) *Préparation des lamelles d'agar.*

Nous avons utilisé un gel d'agar à 3 o/o. Celui-ci est obtenu avec de l'agar de bonne qualité qui, après lavage, est incorporé à la quantité d'eau nécessaire. La solution chaude est filtrée, puis coulée en parallélépipèdes de $24 \times 14 \times 12$ mm. entre des barres de Leuckart. Les blocs d'agar, qui doivent être débités en lamelles de même épaisseur à l'aide du microtome, sont inclus, en vue de cette opération, dans une enveloppe de paraffine ayant la forme d'un U.

Le bloc enfermé dans sa carapace de paraffine est alors fixé sur le porte-objet du microtome. Le rasoir ordinaire y est remplacé par un dispositif spécial, qui est constitué par une lame de rasoir « Valet » pincée dans un châssis en bois à l'aide de deux vis à oreilles. Cette lame mince a l'avantage de ne pas vibrer pendant la manipulation,

comme le faisaient les lames « Gillette », moins épaisses, employées dans un premier essai.

La fin des opérations se poursuit comme s'il s'agissait de coupes histologiques quelconques. Il faut cependant régler la position du bloc de manière qu'à la fin de la course du porte-objet l'incision pratiquée par la lame du rasoir ne traverse pas complètement la gélose et épargne la paraffine.

Quand l'agar est complètement découpé, le bloc est décollé et la paraffine enlevée. Avec une lame mince et très coupante, on enlève d'un seul coup la gélose qui maintient les lamelles d'agar encore groupées.

Nous avons donné à nos plaques une épaisseur voisine de 0 mm. 625 environ qui correspond à celle de 0 mm. 62 fixée par WENT dans sa technique. Ce chiffre a été adopté aussi pour la commodité du découpage. En effet, l'épaisseur minima de coupe réalisée par notre microtome, qui correspond à une des deux cents pointes de la roue dentée, est de $1/100$ de millimètre. Le déclic enlevé, on fait exécuter un tour un quart à la roue dentée, opération facile quand on a tracé sur celle-ci deux diamètres perpendiculaires qui servent de repère. Puis on laisse tomber la pièce à débiter sur la lame coupante. L'épaisseur théorique est donc égale à $1/400 \times 250 = 5/8$ de millimètre = 0 mm. 625.

Les plaques de gélose recueillies sont lavées dans l'eau distillée et conservées dans l'alcool à 90° jusqu'au moment de leur utilisation.

2. — CULTURE DES PLANTES DE TEST

Les jeunes plantules qui servent de coléoptiles de réaction doivent être rigoureusement droites. Aussi leur culture exige-t-elle beaucoup de soins et un contrôle constant.

En se conformant aux prescriptions qui vont suivre un pourcentage élevé de plantes utilisables, plus de 75 0/0, peut être obtenu dans chaque germination.

a) *Germination des graines.*

Nous avons toujours utilisé des graines d'avoine rouge d'Algérie n° 8 de lignée pure ⁽¹⁾. Pour obtenir des germinations homo-

(1) Cette avoine nous a été fournie par le regretté L. DUCELLIER, Professeur d'agriculture spéciale à l'Institut agricole d'Algérie, qui avait pratiqué sur cette céréale des essais d'amélioration méthodique depuis 1907.

gènes, les graines sont ébarbées ⁽¹⁾, puis immergées dans l'eau durant deux ou trois heures. Une fois humectées et gonflées, elles sont mises en germination sur du papier filtre humide dans des boîtes de Pétri. Elles sont laissées à la lumière pendant trente à trente six heures, sous une cloche qui, empêchant l'évaporation, maintient l'humidité nécessaire à leur développement. Cette exposition à la lumière est destinée à inhiber partiellement le développement du mésocotyle. En effet, celui-ci croît anormalement quand le développement se poursuit entièrement à l'obscurité et il est fort gênant dans les diverses opérations pratiquées sur les tigelles : décapitation, puis extirpation partielle de la feuille primaire. Les cuvettes de Pétri sont enfin placées dans des boîtes métalliques assez hautes et fermées par un disque de verre, et l'ensemble est porté dans le cabinet noir où la germination se poursuit. La pièce est éclairée une à deux heures par jour avec la faible lumière rouge donnée par la lampe que nous avons décrite (1, b).

b) *Croissance des plantes de réaction dans les tubes de culture.*

Quand la germination est suffisamment avancée, les germes les plus vigoureux, longs d'environ 4 millimètres, sont placés chacun dans un tube de culture à peu près semblable à celui qu'a décrit WENT (1928), où ils doivent achever leur croissance. Ce dispositif (voir fig. 14) comprend un bâton de verre d'une longueur de 10 centimètres environ et de 3 millimètres de diamètre, portant à une extrémité un petit tube de verre de 1 mm. 8 de diamètre et de 4 millimètres environ de longueur qui a été soudé à la lampe ⁽²⁾ dans une position perpendiculaire à l'axe du bâton de verre. A 2 centimètres de ce petit tube, se trouve enroulé un fil de plomb qui se termine dans sa partie libre par une boucle s'ouvrant dans l'axe du petit tube de verre. Chaque porteur est introduit dans une pince à ressort que l'on fixe par une oreille dans la rainure d'un support. Ce dernier est un bloc de bois qui présente trois rainures et peut par conséquent recevoir trois tubes. L'extré-

(1) BOYSEN-JENSEN considère cette opération comme superflue.

(2) Les tubes, après refroidissement, doivent subir une deuxième et légère cuisson, sinon ils sont extrêmement fragiles et pratiquement inutilisables.

mité des porteurs (tube fin et boucle de métal) est paraffinée avant leur emploi. Cette opération est nécessaire pour empêcher l'eau de monter par capillarité dans le tube ce qui générerait la croissance des plantules.

Chaque graine est alors posée sur la boucle de telle manière que le jeune coléoptile s'engage dans la lumière du petit tube et que les racines apparues les premières au cours de la germination, et déjà longues, passant dans l'anneau de plomb, se développent

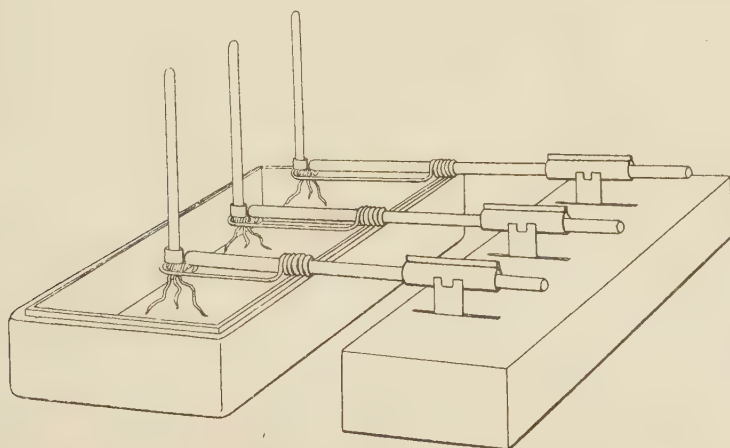


Fig. 14. — Coléoptiles d'avoine dans leurs tubes de culture.

vers le bas. Les tubes de culture — pourvus de leur embryon de plante et fixés sur leurs supports — sont disposés dans les placards devant de petits récipients en verre remplis d'eau de telle sorte que les racines puissent y plonger.

Cette technique nous a toujours donné d'excellents résultats. En effet, on n'a pas à craindre ici les excitations de contact fréquentes avec certains milieux de culture (terre, sciure de bois) qui provoquent des incurvations nombreuses (haptotropisme). De plus, si des courbures éventuelles se produisent, celles-ci peuvent être corrigées. Les plantules peuvent en effet être rétablies à n'importe quel moment dans une position verticale par suite de la mobilité des tubes de culture dans différents plans.

3. — EXTRACTION DES PRODUITS ACTIFS DE L'ORGANISME ANIMAL

Quelques expériences, réalisées au cours d'essais préliminaires, nous ont montré qu'une portion de rein de cobaye ou de poulet, mise par sa surface de section sur une plaque de gélose, communique rapidement à celle-ci la faculté d'induire des courbures sur les plantes de réaction. Cette activité du tissu rénal peut évidemment être attribuée à la présence de l'urine contenue dans les tubes urinifères. Mais des faits analogues sont constatés aussi avec la paroi intestinale du cobaye et du discoglosse. Un fragment de rectum, débarrassé de son contenu par lavage dans l'eau distillée et étendu sur un carré d'agar d'égale surface qui est maintenu très humide, rend la gélose également active. De même, une moitié de larve de *Discoglosse*, appliquée par sa face sectionnée sur un gel d'agar, confère à celui-ci une action identique.

Ces observations expérimentales conduisent à admettre que les cellules de divers organes animaux sont susceptibles de libérer des substances actives capables de favoriser l'élongation cellulaire de jeunes plantules décapitées, et que ces matières hormonales peuvent être captées par simple diffusion dans un gel d'agar à 3 o/o.

Les expériences au cours desquelles nous avons essayé de détecter ces substances actives dans les organes de quelques Vertébrés et Invertébrés ont utilisé des tissus frais n'ayant subi aucun traitement chimique quelconque.

La technique que j'ai suivie est très simple. Le matériel animal est réduit par broyage en une fine purée. Les éléments sexuels, les œufs en voie de segmentation, ainsi que la jeune larve de *Discoglosse*, ont été écrasés dans un verre de montre à l'aide d'une aiguille lancéolée. Les embryons de poulet ont été broyés avec autant de facilité dans un petit mortier. Ce n'est que pour les organes des animaux adultes et pour les larves de *Bombyx mori* et de *Lucilia sericata* que nous avons introduit l'usage du coton de verre ou du sable pur très fin. Mais quel que soit le procédé de broyage adopté, c'est la même quantité en poids de tissu frais — un demi-gramme — qui a été réduite en bouillie et mise à diffuser sur un gel d'agar représenté par un bloc de 10 millimètres de long, 7 mm. 5 de large et 0 mm. 625 d'épaisseur. Lorsque les organes sont très petits : capsules surrénales et thyroïde du cobaye, rate de discoglosse, œufs et jeunes larves d'Insectes, etc., la bande de gélose

est réduite proportionnellement à la masse de tissus utilisés; le rapport entre la masse de tissu et le volume de la gélose reste donc constant. Toutefois divers tissus très riches (têtards de *Discoglosse*, larves âgées d'insectes, certains organes de la grenouille adulte et du cobaye : rein, rectum) peuvent induire pour la même quantité d'un demi-gramme des courbures intenses quand les plaques de gélose employées sont deux ou trois fois plus grandes.

La gélose qui doit servir de milieu de diffusion est, comme nous l'avons vu, conservée dans l'alcool à 90°. Au moment de l'utiliser pour la captation des substances hormonales, elle est lavée pendant trente minutes environ à l'eau distillée renouvelée à deux reprises. Dans ces conditions, l'alcool est complètement éliminé. Puis l'agar est découpé en rectangles ayant les dimensions requises. Cette opération est rapide quand on utilise un gabarit : c'est une lame porte-objet sur la face inférieure de laquelle est collé un morceau de papier divisé en surfaces rectangulaires de $10 \times 7,5$ mm. La grande bande d'agar, qui a été lavée, est posée sur la face supérieure du gabarit; on découpe suivant le tracé qui apparaît par transparence avec le tranchant d'une lame fine.

Chaque plaque obtenue, recueillie sur une nouvelle lame porte-objet, peut recevoir le demi-gramme de tissus broyés. Elle est humectée d'une goutte d'eau distillée, puis recouverte uniformément de la bouillie à étudier. La diffusion dure en général quatre heures, pendant que la lame porte-objet est enfermée dans une boîte en verre (boîte à coloration utilisée en histologie) où elle est posée à plat sur les saillies qui délimitent les rainures. Un peu d'eau au fond du récipient crée l'atmosphère humide indispensable pour empêcher la dessiccation des produits broyés et de la gélose.

Au bout des quatre heures, l'agar, débarrassé des tissus écrasés, est prêt à être essayé sur les coléoptiles de réaction. On fait en sorte que ce moment coïncide avec celui où les plantes de test sont elles-mêmes aptes à être utilisées.

Quelques modifications ayant trait, soit à la durée de diffusion, soit au mode d'extraction (hydrolyse aqueuse, acide, etc.), ont été apportées au cours de divers essais. Elles seront décrites en temps opportun.

4. — LA CONDUITE D'UN ESSAI

Les coléoptiles qui sont utilisés pour la recherche des substances actives doivent être rigoureusement droits et de longueur sensiblement égale. Un choix sévère s'impose; il est rendu facile par l'emploi des tubes de culture amovibles qui peuvent être transportés rapidement d'un support à l'autre.

Je me suis servi, au début de mes recherches, dans la mise au point de la technique, de coléoptiles atteignant une longueur de 6 centimètres environ, comme le prescrivait WENT² (1928). Mais j'ai dû me rendre compte très tôt que ces derniers étaient moins sensibles aux auxines que des plantules légèrement plus courtes. C'est donc avec des tigelles rectilignes de 4 à 4 centimètres et demi de longueur que mes expériences ont été poursuivies.

Les plantes sélectionnées pour un essai sont alignées sur la table de travail et leurs racines plongent dans de petits récipients pleins d'eau. Elles sont décapitées à 5 millimètres environ de la pointe. Pour cela, on fait une légère incision n'intéressant que les tissus du coléoptile et non pas la feuille primaire qui y est contenue. Un scalpel de petite dimension (genre couteau d'Abadie) convient très bien pour cette opération. La pointe est alors légèrement pliée puis arrachée par une légère traction. La feuille primaire dont l'extrémité est devenue libre est un peu tirée en dehors de façon que, ne recevant plus de nourriture, elle cesse de croître. C'est là le geste qui nécessite le plus de précautions : on saisit de la main gauche la partie inférieure du coléoptile en relation avec la graine et on tire doucement de la main droite sur la feuille primaire; on s'arrête quand celle-ci a été déplacée de 4 à 5 millimètres. Finalement, on l'épointe de telle sorte qu'elle ne se prolonge pas au delà de 3 à 4 millimètres de la surface de section de la souche. Les tigelles d'avoine ainsi traitées sont laissées au repos pendant trente minutes; ce temps est nécessaire pour déceler les courbures éventuelles qui peuvent résulter des divers traumatismes subis par les plantules. En fait, les incurvations sont assez rares.

Cinq minutes avant l'expiration de ce délai, l'agar dont l'activité est à déterminer est débité en petits cubes. Je me sers, pour cela, d'un dispositif analogue à celui qui a été décrit au paragraphe précédent, mais le tracé correspond ici à des surfaces de $2 \times 1,5$ mm. La lame porte-objet pourvue de la gélose est placée sur le gabarit,

l'agar peut être ainsi découpé en blocs réguliers en un temps très court.

Les plantes restées droites après la décapitation sont seules utilisées comme plantes de test. Après ce second choix, elles sont réparties en groupes qui pourront être recouverts par les cloches servant de chambres humides. Les cubes d'agar sont portés latéralement sur le côté des coléoptiles et maintenus collés à l'aide d'une trace de solution de gélatine à 15 o/o. La gélatine est conservée à l'état liquide dans un bain-marie pendant l'opération ; elle est déposée au point d'émergence de la feuille primaire au moyen d'un bâton de verre filiforme. Deux plantes témoins, l'une recevant un cube d'agar pur et l'autre un bloc de gélose imprégné de salive filtrée ou d'urine étendue, accompagnent chaque lot de plantes en expériences. Toutes les plantules de réaction sont alors recouvertes d'une cloche dans laquelle une humidité satisfaisante est maintenue, comme nous l'avons dit, par des fragments d'ouate imbibés d'eau.

La température du cabinet de travail et l'heure du collage des blocs sont notés au cours de chaque essai. Les résultats sont enregistrés moins de deux heures après la pose des blocs, en général au bout de 110 minutes.

Pour suivre avec facilité les courbures des coléoptiles, nous avons placé sur chaque porteur un index formé par un fil de plomb qui est collé sur la face antérieure du petit tube de verre. Lorsque le coléoptile est introduit dans la lumière du tube, il cache en partie le fil qui n'est plus visible que dans sa portion terminale. Dès que les blocs sont portés sur les côtés des coléoptiles, on place l'ensemble, plante et index, devant un panneau de carton sur lequel ont été tracées des lignes parallèles équidistantes de 1 millimètre, de telle manière que le coléoptile de réaction recouvre l'index et une des droites parallèles du carton ; le panneau est immobilisé dans un support de bois. Si le bloc d'agar est sans action, les trois éléments (plantule, index, ligne du panneau) restent sur la même droite. Par contre, dès que se produit la plus faible courbure, la plantule découvre l'index. La projection de la pointe sur les autres droites parallèles du carton permet d'évaluer grossièrement la valeur de l'angle observé.

Une évaluation approximative des courbures peut être faite aussi par mesure directe sur les coléoptiles avec un rapporteur.

CHAPITRE II

LA MISE EN ÉVIDENCE DE SUBSTANCES FONCTIONNANT COMME LES AUXINES VÉGÉTALES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DES VERTÉBRÉS

A. — Chez *Discoglossus pictus* Otth.

a) *Place dans la systématique et cycle biologique.*

Le Discoglosse est un batracien anoure que l'on rencontre fréquemment sur le littoral algérien dans les lieux humides ou arrosés. Il est abondant au Jardin d'Essais d'Alger où on le trouve dans les eaux claires des bassins et des petits canaux d'irrigation. Son régime est insectivore. La capture du Discoglosse est facile pendant la période d'activité génitale, qui va du début de février au milieu du mois de mai. La fécondation est externe. La femelle vide ses oviductes et au fur et à mesure que les œufs sont évacués, le mâle les arrose de sperme. L'accouplement et la ponte ont lieu dans l'eau. La ponte débute dès la première quinzaine de février, devient fréquente dans le mois de mars, puis décroît par la suite. Chaque ponte comprend plus de 500 œufs qui tombent isolément au fond de l'eau. L'œuf hétérolécithe a un diamètre de deux millimètres, le tiers inférieur est blanc, le reste noir à sommet aplati. L'éclosion, beaucoup plus précoce que chez la *Rana*, a lieu au bout de trois jours. La larve se développe très vite. La durée des métamorphoses est de deux mois environ.

b) *Recherche de substances actives dans les éléments sexuels : sperme et ovules.*

Il est facile de se procurer, au moment de la période du rut, des éléments sexuels mûrs. L'ouverture d'un testicule laisse alors s'écouler un sperme épais et abondant que l'on recueille dans un verre de montre. On peut également le récolter en incisant et en

raclant avec une aiguille lancéolée les vésicules séminales, qui sont fortement hypertrophiées à cette époque par l'accumulation des éléments mâles.

Les ovules sont pris directement dans les utérus dilatés de la femelle où ils s'accumulent avant la ponte. Nous avons pu obtenir aussi des œufs non fécondés en isolant des femelles prêtes à pondre, capturées le jour même dans la nature. L'expulsion des œufs, chez ces femelles, s'effectue très tôt, le plus souvent deux à quatre heures après la mise en captivité.

Les éléments sexuels ainsi recueillis ont été utilisés conformément à la technique décrite plus haut. Le sperme tel quel, les œufs au préalable dégangués et écrasés, ont été dans des essais répétés laissés en diffusion sur des plaques de gélose, d'abord deux heures, puis quatre heures et enfin toute la journée, à la température du laboratoire, soit environ 18°. Les cubes d'agar, — obtenus par découpage des plaques de gélose —, portés sur des plantules de réaction n'ont jamais provoqué, au cours de dix-huit essais, la courbure caractéristique des hormones de croissance. Dans une série de huit expériences, les plaques de gélose, une fois recouvertes des produits à étudier, ont été conservées à la glacière, pendant un temps variable allant de quatre à vingt-quatre heures, à une température voisine de 4 à 5°. Là encore, aucune courbure des coléoptiles n'a pu être décelée. Enfin, dans une dernière série de quatre essais, le sperme d'une part, et les œufs broyés d'autre part, ont été mélangés à une quantité égale en poids d'eau distillée. Les résultats ont été aussi négatifs.

Les œufs pourvus de leur chorion soigneusement écrasés en présence de coton de verre donnent une purée également inactive sur les plantules de réaction.

Tous ces faits nous conduisent à admettre que le sperme, aussi bien vivant que mort, et les ovules vierges ne contiennent pas de substances comparables aux auxines végétales et décelables par la méthode du coléoptile d'avoine telle que nous l'appliquons.

c) Leur apparition au cours de l'ontogénèse.

Nous avons utilisé pour ces recherches des pontes provenant de couples isolés dès leur capture. Celle-ci avait lieu généralement le matin au Jardin d'Essais et, presque toujours, il nous a été permis

d'assister à l'accouplement dans la même journée et de préciser ainsi l'heure exacte de la fécondation des œufs. Les pontes d'âge connu, étaient lavées soigneusement puis placées dans des cristallisoirs disposés à l'intérieur du laboratoire. La température de l'eau est, dans ces conditions, à peu près constante — elle oscille entre 18 et 19° — et le développement se poursuit d'une façon régulière. Avant chaque préparation, le stade de segmentation de l'œuf est soigneusement déterminé par examen au binoculaire. Dans certains de nos essais, nous avons utilisé des embryons provenant d'œufs dégangués ; les résultats observés sont identiques à ceux obtenus avec des pontes pourvues de leur chorion.

Les produits de broyage d'œufs venant d'être fécondés (c'est-à-dire utilisés immédiatement après la ponte), d'œufs aux stades : 2, 4, 8, mis à diffuser pendant quatre heures sur l'agar, ne confèrent à celui-ci aucun pouvoir sur la croissance de jeunes plantules d'avoine. Cette absence d'activité a été vérifiée sur une vingtaine de pontes. Le temps de diffusion accru ne modifie pas les résultats. L'extraction aqueuse est aussi manifestement inactive. Il ne nous a pas été permis non plus de provoquer de courbures, même très faibles, en utilisant les produits de broyage d'œufs au stade morula. Ainsi au cours de la segmentation, l'œuf se révèle sans action sur les coléoptiles d'avoine.

Pendant la première partie de l'embryogénèse, qui débute à la gastrulation, les résultats sont encore négatifs. A la fin de celle-ci, l'embryon semble dépourvu de matière active. Mais au bout de quarante-six heures environ, dans les conditions de température sus-indiquées, la purée d'embryons dont la partie céphalique est devenue très apparente, se révèle puissamment active sur les plantules d'avoine décapitées. Cette activité s'accroît jusqu'à cinquante-deux heures, époque où il semble y avoir un maximum de substances de croissance. Ces faits ont été contrôlés sur 35 pontes. Par la suite, les produits de broyage continuent à diffuser de la matière active, en quantités importantes, jusqu'à l'éclosion qui a lieu en moins de soixante-dix heures. Les corps de croissance persistent abondamment dans les jeunes larves qui viennent d'éclore, même pendant la période de vie autotrophique, au cours de laquelle elles font exclusivement appel à leurs réserves en vue de leur nutrition. Ces substances sont également retrouvées dans le jeune têtard nourri, où on peut les détecter jusqu'à la métamorphose.

En résumé, la technique que nous avons employée pour la recherche des substances du type des auxines végétales au cours du développement du Discoglosse, aboutit aux conclusions suivantes :

1° Les cellules sexuelles mâles et femelles, l'ovule fécondé et l'œuf segmenté — ce dernier à n'importe quelle phase de segmentation — sont dépourvus de matières actives susceptibles de provoquer la courbure des coléoptiles d'avoine décapiés.

2° Des substances diffusibles dans un gel d'agar, où elles peu-

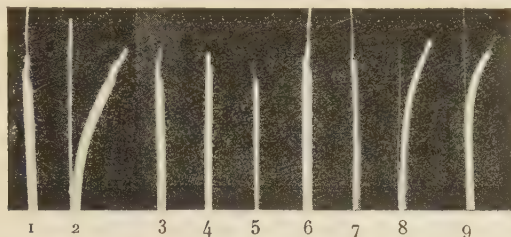


Fig. 15. — Les substances de nature auxinique au cours de l'embryogénèse de *Discoglossus pictus* Oth.

Les coléoptiles 1 et 2 — témoins — ont reçu : 1, un cube d'agar pur ; 2, un cube d'agar imprégné de salive. Les coléoptiles 3 à 9, ont reçu un cube d'agar imprégné : 3, de sperme ; 4, d'une purée d'œufs vierges ; 5, d'une purée d'œufs fécondés ; 6, 7, d'une purée d'œufs à deux stades différents de la segmentation ; 8, du produit de broyage de l'embryon au stade de la fermeture de la gouttière médullaire ; 9, d'une purée de jeunes têtards à l'éclosion. (Dans ces deux derniers cas, le produit de broyage pesant aussi un demi-gramme a diffusé sur une lame d'agar de $20 \times 15 \times 0,62$ mm.).

vent être recueillies facilement, et capables de provoquer sur de jeunes plantules de réaction la courbure caractéristique des auxines, apparaissent d'une manière spontanée à un stade défini et précoce du développement embryonnaire. Ces matières actives persistent en quantité très appréciable pendant toute la vie larvaire du jeune batracien.

d) *La répartition topographique des substances actives contenues dans l'embryon avant et après l'éclosion, et dans la larve âgée de quelques jours.*

Dans l'embryon de Discoglosse sur le point d'éclore, il ne nous a pas été possible de déterminer de territoires cellulaires plus spécialement riches que d'autres en substances actives. Mais nous

avons pu constater que, peu après la naissance du jeune têtard, les matières du type des auxines végétales ne tardent pas à se localiser dans certaines parties du corps. Pour préciser leur répartition, nous avons utilisé la technique qui nous a permis de les mettre en évidence au cours de l'ontogénèse du batracien. Par broyage des différentes régions isolées du jeune organisme, et diffusion des purées obtenues sur des plaques de gélose, nous avons successivement étudié : l'embryon non éclos, le têtard venant de naître, et enfin, la jeune larve âgée de huit à dix jours.

α) L'embryon à un stade qui précède de peu l'éclosion.

De jeunes embryons, environ trois heures avant la naissance normale, sont extraits de l'œuf et coupés en deux. Les parties caudales d'une part, les tronçons antérieurs d'autre part, sont broyés finement. Les purées sont alors étendues sur des plaques de gélose de même volume. Les bandes d'agar, débarrassées de leur bouillie de tissus, sont ensuite découpées en petits cubes qui sont portés sur les coléoptiles réactifs.

Dans toutes nos expériences qui se rapportent à cet âge et pour lesquelles nous avons utilisé huit pontes, les angles de courbure de ces plantules ont la même valeur, ce qui prouve que les deux purées sont aussi riches l'une que l'autre en substances fonctionnant comme les auxines végétales.

Chez l'embryon non éclos, les hormones seraient donc uniformément réparties dans tout l'organisme.

β) Le têtard venant de naître.

Mais après l'éclosion, les choses ne se passent plus ainsi. Les parties caudales de têtards âgés de dix à douze heures, préparées d'une manière identique à la précédente, ne provoquent qu'une courbure très réduite du coléoptile. Par contre, l'ensemble des régions céphalique et viscérale ne paraît pas appauvri en matières de croissance puisqu'elles donnent toujours des courbures de grande amplitude.

Ainsi, les réponses des plantes de test sous l'action de ces deux catégories de purée montrent nettement une ébauche de localisation

de l'hormone de croissance. La région caudale de la larve qui vient de sortir de l'œuf est moins riche que les autres parties de l'organisme.

γ) *La jeune larve âgée de huit à dix jours.*

Des têtards beaucoup plus âgés que les précédents, pris huit à dix jours après l'éclosion, sont étudiés d'une manière plus complète. Chaque larve est sectionnée en quatre segments :

- 1° la tête ;
- 2° le tronc sans les viscères ;
- 3° les viscères ;
- 4° la queue en arrière de l'anus.

Ces quatre régions sont broyées séparément et des masses égales de purée sont étalées comme d'habitude sur des plaques d'agar de mêmes dimensions.

L'expérience montre que les courbures obtenues sur les coléoptiles de réaction sont différentes : très grandes chez les plantules qui ont reçu un bloc de gélose contenant les substances diffusées par le produit de broyage des viscères, elles sont nulles pour les tigelles porteuses d'un cube d'agar qui a été en contact avec la bouillie faite de parties caudales. L'agar où ont diffusé les parties céphaliques écrasées provoque sur les plantes de test des ripostes presque aussi énergiques que celui qui a été en rapport avec la purée de viscères. Enfin la gélose qui contient la matière active émise par les troncs éviscérés n'agit que modérément sur les coléoptiles décapités.

Les réponses des plantes de réaction montrent donc : que chez la larve de Discoglosse âgée d'une dizaine de jours les viscères et la tête sont les seules parties de l'organisme riches en substances dont l'action est comparable à celle des auxines végétales ; que le tronc éviscéré, relativement pauvre, contient encore des quantités nettement appréciables, mais que la partie caudale en est totalement dépourvue.

Ces données, fournies par huit essais réalisés avec des têtards âgés de dix jours, et deux autres, pratiqués sur des individus âgés seulement de huit, semblent prouver que la localisation des substances actives, déjà amorcée peu après l'éclosion de la jeune larve, s'accuse avec l'âge de celle-ci, et qu'en un mot, elle se précise au fur et à mesure que l'organisme se complique.

L'ensemble de ces faits peut être résumé par les trois points suivants :

1° Les substances actives révélées au cours de l'ontogénèse du Discoglosse et qui fonctionnent comme les auxines végétales ont une répartition homogène dans l'embryon non éclos ;

2° Très rapidement, chez le têtard qui vient de naître, elles ont

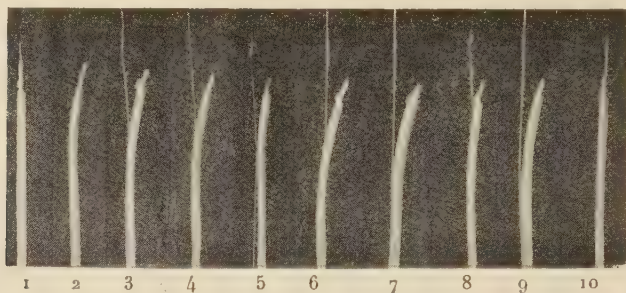


Fig. 16. — Répartition topographique des substances de croissance chez le jeune têtard de Discoglosse.

1 et 2, coléoptiles témoins ayant reçu : 1, un cube d'agar pur ; 2, un cube d'agar imprégné d'urine diluée ; 3 à 10, coléoptiles ayant reçu un cube d'agar imprégné d'une purée faite avec : 3, les parties caudales d'embryons à un stade précédant de peu l'éclosion ; 4, les tronçons antérieurs des mêmes embryons que ci-dessus ; 5, les parties caudales de têtards éclos depuis une dizaine d'heures ; 6, les tronçons antérieurs des têtards précédents ; 7, des têtes de larves âgées de dix jours ; 8, les troncs éviscérés des têtards précédents ; 9, les viscères des mêmes têtards ; 10, les queues des mêmes animaux. (Les substances actives décelées émises par un demi-gramme de tissu broyé ont été recueillies dans une plaque de gélose de $30 \times 15 \times 0,62$ mm.).

une distribution hétérogène par suite de leur disparition de certains tissus ;

3° Enfin, chez le têtard âgé de quelques jours, elles semblent se localiser presque uniquement dans les viscères et dans la région céphalique.

e) *Influence du jeûne, chez le têtard de Discoglossus pictus Otth, sur la teneur en substances fonctionnant comme les auxines végétales.*

Les expériences précédentes montrent nettement que l'embryon de Discoglosse élabore au cours de son développement des substances qui provoquent l'élongation de jeunes coléoptiles d'avoine et qui,

très rapidement, se localisent dans différentes parties du corps de la larve plus évoluée. Comme ces matières apparaissent avant l'éclosion, et par conséquent avant l'ingestion par le jeune animal de substances alimentaires, il nous a été permis de penser qu'elles sont élaborées aux dépens des réserves nutritives de l'embryon et que, en conséquence, l'épuisement des dites réserves pourrait entraîner la disparition des substances actives. C'est pour vérifier le bien-fondé de cette hypothèse que nous avons entrepris une série de recherches grâce auxquelles nous avons pu suivre journellement l'effet du jeûne sur la quantité d'auxine présente chez la larve du batracien.

Des têtards de *Discoglossus pictus* Otth, provenant d'une même ponte, sont répartis dès leur éclosion en deux lots. L'un est normalement alimenté ; l'autre placé dans l'eau pure ne reçoit aucun produit nutritif.

L'ensemble de nos essais a porté sur dix pontes. La segmentation des œufs s'est effectuée, pour huit d'entre elles, à une température de 20° C. Après l'éclosion, le développement des témoins, comme celui des larves privées d'aliments s'est poursuivi à la même température. Pour les deux autres, la température de l'eau, qui était voisine de 18° pendant la segmentation et l'embryogénèse, s'est élevée à 19° au moment de l'éclosion et s'est maintenue à peu près constante pendant toute la durée de l'évolution des larves. Ces différences très faibles de température, comme nous le constaterons dans l'exposé des résultats, n'ont pas paru agir sur les quantités d'auxine élaborées par les larves.

Tous les jours, le même nombre de têtards est prélevé dans chaque lot et broyé. Chacune des deux purées obtenues est placée sur des plaques d'agar suivant la méthode décrite précédemment. Au bout de quatre heures, les géloses débarrassées de leur bouillie sont essayées sur les coléoptiles réactifs.

Cette technique nous a permis d'observer les faits suivants :

Pour cinq des dix pontes étudiées — dont quatre se sont développées à la température de 20° et une à la température légèrement plus basse de 18-19° — nous avons obtenu pendant la première semaine des réponses identiques avec les purées faites d'animaux prélevés dans les deux lots. Les courbures égales indiquent que les quantités d'auxine sont équivalentes à cette époque. Mais à partir du dixième jour environ, les blocs d'agar porteurs des substances

diffusées par la bouillie de têtards à jeun sont de moins en moins actifs sur les coléoptiles de test. Ils deviennent totalement inefficaces vers le quinzième jour. Les têtards en inanition sont petits et leur taille paraît stationnaire.

Pour trois autres pontes, les géloses correspondant aux deux lots provoquent des courbures égales pendant les sept premiers jours d'expériences. Dès le neuvième jour, l'action des blocs d'agar qui contiennent les substances élaborées par la purée de têtards privés

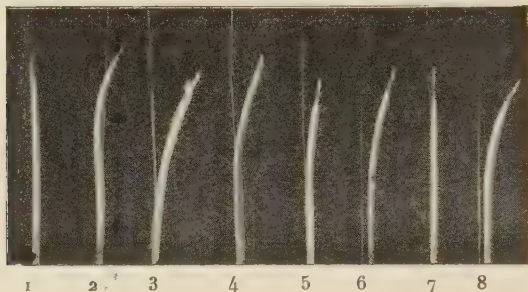


Fig. 17. — Influence du jeûne sur la teneur en auxines.

1 et 2, coléoptiles témoins, porteurs : 1, d'un cube d'agar pur ; 2, d'un cube d'agar imprégné d'urine diluée ; 3 à 8, coléoptiles ayant reçu un bloc d'agar imprégné d'une purée faite avec : 3, des têtards soumis au jeûne depuis cinq jours ; 4, des têtards du même âge, mais normalement alimentés ; 5, des têtards soumis au jeûne pendant dix jours ; 6, des têtards du même âge que précédemment, mais normalement alimentés ; 7, des têtards soumis au jeûne pendant quinze jours ; 8, des têtards du même âge que les précédents, mais normalement alimentés. (Les plaques de gélose où a diffusé un demi-gramme pour chacune des catégories de tissus broyés sont de $20 \times 15 \times 0,62$ mm.).

de nourriture devient plus faible. A partir du douzième jour, la gélose qui a reçu le produit de broyage de ces dernières larves devient à son tour inefficace sur les plantules de réaction. Sur les trois élevages étudiés, un seul s'est poursuivi à la température de $18-19^{\circ}$.

Enfin, pour les deux dernière pontes, l'effet du jeûne, s'est manifesté un peu plus tôt. Nous avons constaté une différence d'action des deux sortes de purée dès le septième jour d'expériences. Cette activité s'est faite de plus en plus faible jusqu'au dixième jour inclus. A partir de ce moment, la purée de têtards en inanition ne provoque plus de courbure. Ainsi la diminution en matières

actives, amorcée dès le sixième jour de jeûne, s'accuse de plus en plus et la disparition totale se manifeste à la fin de la dixième journée.

Dans toutes les pontes utilisées, les têtards témoins, c'est-à-dire ceux qui reçoivent une alimentation normale, élaborent régulièrement des substances actives jusqu'à l'apparition des pattes postérieures, stade de la vie larvaire auquel nous avons cessé nos recherches.

De l'ensemble des résultats, on peut conclure :

Que, chez *Discoglossus pictus* Otth, des substances qui fonctionnent comme les auxines végétales persistent pendant toute la vie larvaire du têtard normal.

Et que, d'autre part, à partir d'une semaine environ, à une température voisine de 20°, le jeûne fait disparaître plus ou moins vite ces substances.

f) *La recherche de ces substances chez le Discoglosse adulte.*
Leur répartition topographique.

Nous avons vu (p. 121) que les substances actives élaborées au cours de l'ontogénèse de ce batracien, qui ont tout d'abord dans l'embryon non éclos une distribution homogène, se localisent bien vite, chez la larve âgée de quelques jours, presque uniquement dans les viscères et la région céphalique. Nous avons noté aussi (p. 118) qu'elles sont présentes pendant toute la vie larvaire où elles ont été détectées jusqu'à l'apparition des pattes postérieures.

Afin de rendre plus complète cette étude sur le Discoglosse, nous avons recherché si de telles substances pouvaient être révélées dans les divers organes de la grenouille adulte, et si l'ébauche de localisation, manifeste chez la larve âgée d'une dizaine de jours, s'accroissait plus encore.

La technique employée est la même que celle qui a été utilisée pour l'étude du têtard de différents âges. Les organes, soigneusement prélevés, ont été broyés finement en présence de sable fin très pur. Nous rappelons que les bouillies obtenues sont mises à diffuser pendant quatre heures sur des plaques de gélose de mêmes dimensions. Au bout de ce temps, l'agar, qui a été conservé à la température du laboratoire, soit environ 19° C., est débarrassé des produits de broyage, puis essayé sur les coléoptiles de réaction.

Les cubes placés sur les plantules d'avoine nous ont permis de

répartir les organes du Discoglosse adulte, suivant l'amplitude des courbures observées, en trois groupes assez nets :

1° Ceux qui, dans toutes les expériences effectuées, soit une vingtaine, n'ont jamais communiqué au gel d'agar la propriété caractéristique de l'auxine. L'absence totale de courbure chez les plantes de réaction permet de les considérer comme des organes ne contenant pas trace décelable de substances fonctionnant comme les auxines végétales, dans les conditions expérimentales où nous opérons. L'encéphale, la moelle épinière, le foie, le pancréas, la rate, le tissu musculaire, le cœur, et le corps adipeux qui surmonte les testicules et les ovaires, sont dans ce cas. Il ne nous a pas été permis non plus de provoquer même de très faibles courbures en utilisant des blocs de gélose immergés pendant quatre heures dans la bile et le sang. Ces deux liquides se révèlent donc dépourvus de substances actives.

Dans deux essais supplémentaires, nous avons soumis tous ces organes à une extraction aqueuse. Les produits de broyage, étendus d'un poids égal d'eau distillée, même lorsque la macération se prolonge au delà de quarante-huit heures à la température de 5° C., se montrent encore inactifs. Ainsi, l'hydrolyse aqueuse des tissus écrasés aboutit pour cette catégorie d'organes, comme notre technique ordinaire de diffusion, à un échec complet.

2° Les organes dont la fine bouillie confère à la gelée d'agar, après une diffusion de quatre heures, une action faible mais constante sur les coléoptiles décapités. La photographie (fig. 18) montre que l'ovaire (12), le testicule (13), et le poumon (14), qui sont capables d'induire de faibles courbures, peuvent être rangés dans cette catégorie. Nous avons constaté aussi que le tissu pulmonaire possède l'activité la plus forte alors que celle de l'ovaire l'est le moins.

Des résultats concordants, obtenus dans une vingtaine d'essais, nous font admettre que ces organes contiennent une faible quantité de substance de croissance ;

3° Les derniers, les plus riches, sont ceux dont les tissus écrasés ont, au cours de vingt essais, agi vigoureusement et de façon constante sur l'élongation cellulaire des coléoptiles. Parmi ces organes, à activité très grande, se trouvent : la peau (15), le rectum et surtout le rein (17). Ces deux derniers provoquent les courbures les plus intenses, aussi les considérons-nous comme les organes du Discoglosse les mieux pourvus en substances actives.

De même, des cubes d'agar immergés dans de l'urine sont capables d'induire des fortes incurvations (16), qui ont cependant une amplitude légèrement inférieure à celles observées pour le tissu rénal. L'urine contient donc un peu moins de substances auxiniques que le rein.

L'étude de l'intestin montre que le duodénum est inactif sur les plantes de test ; mais que, par contre, les produits de broyage de l'intestin moyen agissent faiblement. Ces faits soulignent un enri-

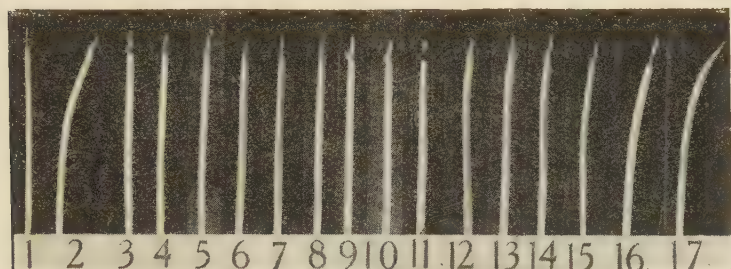


Fig. 18. — Répartition topographique des hormones chez le *Discoglosse* adulte.

1 et 2, coléoptiles témoins ayant reçu : 1, un cube d'agar pur ; 2, un cube d'agar imprégné de salive ; 3 à 15, et 17 : coléoptiles ayant reçu un cube d'agar imprégné d'une purée faite avec : 3, l'encéphale ; 4, le foie ; 5, le pancréas ; 6, la rate ; 7, le tissu musculaire ; 8, le cœur ; 9, le corps adipeux jaune ; 10, la bile ; 11, le sang ; 12, l'ovaire ; 13, le testicule ; 14, le poumon ; 15, la peau ; 17, le rein ; 16, coléoptile ayant reçu un cube d'agar imprégné d'urine étendue de trois volumes d'eau. (Les hormones décelées correspondent à un demi-gramme de tissus frais mis à diffuser sur une plaque de gélose de $10 \times 7,5 \times 0,62$ mm. ; pour le rein (17), cependant, la même masse a séjourné sur une bande d'agar trois fois plus grande).

chissement graduel du tube intestinal qui s'établit depuis la région antérieure dépourvue de toute action pour aboutir à la partie rectale, où la teneur en éléments actifs est la plus élevée.

Enfin, nous avons constaté que le contenu rectal provoque chez les plantes de réaction de fortes ripostes qui témoignent de la présence d'une quantité très importante de matières comparables aux auxines.

Après avoir observé une localisation des substances hormonales contenues dans l'organisme du *Discoglosse* adulte, et en avoir établi la répartition topographique, nous avons exploré, chez l'ani-

mal soumis au jeûne, les divers organes qui avaient été reconnus riches de ces matières chez le batracien normal.

Nos expériences ont porté sur deux lots de *Discoglosse* recueillis l'un au début de mai, l'autre au début de juin. Les grenouilles, soigneusement lavées, sont maintenues captives dans de petits cristallisoirs minutieusement nettoyés chaque jour. Elles sont entièrement privées de nourriture.

L'examen des principaux organes réduits en bouillie montre une diminution constante de la quantité d'auxine. Cet appauvrissement, visible dès la fin de la troisième journée, affecte d'abord les organes qui ne renferment normalement qu'une petite quantité de produits actifs, comme le testicule et le poumon. Puis il s'accroît brusquement les quatrième et cinquième jours. Pour les animaux de la première série, c'est à la fin du cinquième jour que les purées d'organes, sauf celles du tissu rénal, sont devenues totalement inactives. Pour ceux de la seconde, les bouillies faites avec la partie rectale de l'intestin ont provoqué encore de faibles courbures à la fin du septième jour, mais dès la neuvième journée aucune incurvation décelant la présence d'hormone de croissance n'a pu être observée sur les plantes de réaction. Le rein, après onze jours de jeûne, conserve une faible activité qu'il semble perdre d'une manière définitive à la fin du douzième jour. Cependant les extraits aqueux de tissu rénal possèdent encore une légère action au delà de la quatorzième journée. Ainsi le rein est l'organe du *Discoglosse* qui résiste le plus à l'épreuve du jeûne.

L'activité de l'intestin paraît être en relation avec la quantité de matières alimentaires qui s'y trouvent contenues; celles-ci entièrement disparues, la paroi intestinale ne tarde pas à perdre toute activité.

Il résulte de ces expériences :

1° Que des substances fonctionnant comme les auxines végétales existent chez *Discoglossus pictus* Otth adulte où elles ont une répartition hétérogène.

2° Que les organes qui en sont les plus richement pourvus paraissent être ceux auxquels on reconnaît des fonctions excrétrices importantes.

3° Que chez la grenouille adulte le jeûne a, comme chez la larve, une influence manifeste sur la teneur en substances actives des tissus. Celles-ci se raréfient de plus en plus et peuvent disparaître en un temps assez court.

B. — Chez le poulet.

La recherche de substances comparables aux auxines végétales, au cours du développement de l'œuf de *poule*, a été poursuivie conformément à la technique que nous avons employée pour les détecter pendant l'ontogénèse du *Discoglosse*.

a) *Incubation des œufs.*

Tous les œufs et embryons qui ont servi de matériel d'étude appartiennent à la race *Bresse blanche*.

Des œufs fraîchement pondus sont lavés avec de l'eau tiède dont la température atteint environ 25° C. Ils sont ensuite soigneusement séchés. On inscrit sur chaque œuf l'heure et la date de la mise en incubation. Après un repos d'une douzaine d'heures, ils sont placés, en évitant de changer leur position, dans la couveuse réglée à une température de 39° C. L'atmosphère humide de l'incubateur est réalisée grâce à deux petites éponges placées au-dessus des trous d'aération et qui, chaque jour, sont trempées dans de l'eau légèrement chaude.

Pendant l'incubation, les œufs sont retournés chaque matin afin d'éviter la formation d'adhérences et de monstruosité. Cette pratique est indispensable à partir du sixième jour.

b) *Recherches des substances actives dans l'œuf fécondé non soumis à l'incubation.*

On sait que la cellule-œuf (jaune) est fécondée à l'intérieur du corps de la poule et que son développement commence pendant qu'elle chemine dans l'oviducte où, successivement, elle est entourée de ses annexes : albumine, membrane coquillière et coquille. Au moment de la ponte, la segmentation s'arrête. A ce stade la cicatrice est déjà transformée en un disque germinatif. Le développement ne reprend sa marche que si l'œuf est soumis à l'incubation.

Pour rechercher si des substances actives sont contenues dans l'œuf de poule fécondé, on sépare le jaune du blanc. Des plaques d'agar sont immergées dans les deux éléments constitutifs ; elles y

restent d'abord quatre heures pour une série de douze expériences, puis un temps plus long allant jusqu'à vingt-quatre heures pour huit autres essais. Quelle qu'ait été la durée de leur immersion dans le jaune et l'albumine, les blocs de gélose n'ont jamais provoqué d'incurvation sur les plantes de test.

La cicatricule isolée, placée sur un petit morceau d'agar de $2 \times 2 \times 0$ mm. 62 ne laisse pas non plus diffuser de substances capables de provoquer l'extension cellulaire d'une souche d'avoine décapitée.

Enfin, le jaune, délayé dans un volume égal d'eau distillée et soumis ainsi à l'hydrolyse aqueuse, ne libère pas davantage de matières actives décelables par le coléoptile, dans les conditions où nous avons opéré.

Le blanc étendu d'eau se montre également inactif.

En résumé, nous constatons que tous les éléments de l'œuf de poule fécondé (jaune, cicatricule et blanc) sont sans action sur les plantes de test et nous pouvons conclure de ces faits que, non soumis à l'incubation, il est dépourvu de substances actives capables de travailler comme les auxines végétales.

c) Leur apparition tardive et à dose minime dans l'œuf incubé.

Pour la recherche des auxines au cours de l'incubation de l'œuf de poule fécondé, nous avons procédé à des essais journaliers. Pendant la première partie du développement, l'étude de chaque œuf, du point de vue qui nous intéresse, a compris seulement l'examen de l'embryon et des matériaux nutritifs : vitellus et blanc. Pour la deuxième partie, que nous avons fixée aux sixième et jours suivants, s'ajoute la recherche d'auxine dans les annexes embryonnaires : amnios et allantoïde.

L'embryon de poulet peut s'extirper facilement de l'œuf quand on sait que son orientation est constante. En effet, le germe se développe perpendiculairement au grand axe de l'œuf, de telle sorte que le gros bout se trouve à sa gauche et l'extrémité pointue à sa droite.

Dans toutes nos expériences, l'embryon une fois isolé a été lavé dans une solution de Ringer pasteurisée, puis séché dans du papier-filtre stérilisé et enfin broyé finement. Des quantités égales en poids de purée d'embryon, de jaune et de blanc, sont alors étalées sur

des plaques d'agar. Après un séjour de quatre heures, les produits mis à diffuser sont retirés. Les essais sur les plantes de réaction se poursuivent d'une manière strictement conforme à celle qui a été adoptée pour la recherche des auxines chez le *Discoglosse*.

Nous avons constaté que les blocs d'agar prélevés sur des bandes de gélose ayant servi de milieu de diffusion aux purées d'embryons, au vitellus et au blanc d'œufs en voie de développement, n'ont jamais provoqué de courbure, même très faible, des coléoptiles en expérience, jusqu'au douzième jour d'incubation compris.

Lorsque la durée de diffusion des différents produits de broyage se prolonge au delà de la période normale de quatre heures, une journée entière par exemple, à la température du laboratoire, — voisine de 19° —, ou bien encore plusieurs jours, à la glacière, à une température qui n'excède pas 4° à 5° , l'agar se montre toujours inactif.

Nous avons étudié dans quatre séries d'expériences les purées faites avec les deux annexes embryonnaires : amnios et allantoïde, prélevées du sixième au douzième jour d'incubation inclus ; elles n'ont jamais déterminé sur le test avoine la courbure caractéristique des auxines.

Des blocs d'agar, immergés pendant quatre heures et plus dans du liquide amniotique prélevé à l'aide d'une fine pipette stérilisée, sont restés également sans action. Ces faits ont été constatés sur les œufs de quatre incubations et pour une période allant encore du sixième au douzième jour du développement.

Enfin, dans une série de huit essais, nous avons soumis l'embryon écrasé à l'hydrolyse aqueuse en lui ajoutant une quantité égale en poids d'eau distillée. Au cours de la macération qui se prolonge pendant quarante-huit heures au frigidaire, il ne nous a pas été possible de déceler la moindre trace de produit actif sur les coléoptiles.

Mais à l'approche du treizième jour d'incubation, les phénomènes observés deviennent sensiblement différents. Les produits de broyage d'embryons âgés de douze jours huit heures agissent, très faiblement, sur les plantules d'expérience. Cette action, à peine positive, a été vérifiée sur vingt spécimens dont les âges s'échelonnaient entre douze jours onze heures et treize jours. Dans tous les cas, de très légères courbures apparaissent décelant la présence de quantités infimes d'hormone de croissance. Par la suite avec des

embryons plus vieux, au quatorzième et quinzième jour, on provoque sur les plantes décapitées des réponses un peu plus nettes, mais ici encore la dose d'auxine agissante est extrêmement faible. A partir du seizième jour, elle baisse à nouveau et se maintient d'une façon uniforme jusqu'à l'éclosion.

Le liquide amniotique et le produit de broyage de l'allantoïde, qui est richement vascularisée, se montrent actifs dans le même ordre de grandeur.

Le vitellus et le blanc sont toujours incapables; par contre, d'induire une courbure quelconque sur les plantes de test.

Il résulte des faits observés que :

1° L'œuf fécondé de la poule soumis à l'incubation ne contient pas de substances fonctionnant comme les auxines végétales pendant toute la période de segmentation.

2° Les premiers stades de l'embryogénèse en sont également dépourvus.

3° Ces substances apparaissent en quantité extrêmement faible à une époque avancée de l'ontogénèse, non seulement dans l'embryon mais aussi dans le liquide amniotique et l'allantoïde.

4° Elles peuvent être recueillies par simple diffusion dans une gélose d'agar et paraissent un peu plus abondantes pendant les quatorzième et quinzième jours du développement de l'œuf. Elles persistent jusqu'à l'éclosion, mais à des doses extrêmement faibles.

En résumé, l'hormone de croissance est à peine décelable à tous les stades de l'embryogénèse de l'œuf de poule.

d) Chez l'adulte.

La recherche d'auxines chez le poulet adulte, ou de substances favorisant comme elles l'élongation cellulaire de jeunes plantules d'avoine, n'a porté que sur quelques organes. En effet, au cours des trois années où nous avons essayé de les mettre en évidence dans l'embryon de différents âges, nous avons étudié parallèlement la répartition de ces substances dans l'organisme du Discoglosse adulte et du cobaye. Les résultats relatifs au batracien, exposés plus haut, sont déjà connus; ceux qui concernent le cobaye seront donnés dans le paragraphe suivant.

En conséquence, il nous a paru inutile d'entreprendre, avec autant de détails, une étude similaire sur l'oiseau adulte. Nous nous

sommes borné à étudier d'une part le rein et l'intestin postérieur qui, chez les animaux précédents se sont montrés richement pourvus, d'autre part le foie, le cœur et le muscle, pour lesquels toutes nos expériences ont été négatives.

Dans de multiples essais, notre technique montre que les purées faites avec le rein ou le rectum donnent des courbures intenses qui indiquent que ces organes contiennent beaucoup de substances actives.

Par contre, les bouillies obtenues en broyant le foie, le cœur et des fibres prélevées dans les muscles pectoraux et dans ceux de la jambe, restent totalement inactives sur les plantules.

De même, l'hydrolyse aqueuse de ces derniers organes et tissus ne nous a pas permis de déceler la moindre trace d'auxine.

Des résultats identiques ont été obtenus pour d'autres oiseaux. Successivement ont été essayés les organes correspondants du *pigeon*, de l'*étourneau* et du *goéland*. Quoique ces deux derniers aient un régime alimentaire différent, les effets constatés sont semblables : présence d'une quantité très grande d'auxine dans le rein et la partie rectale de l'intestin, absence de telles matières dans le foie, le cœur et le tissu musculaire.

Des réponses obtenues il résulte :

1° Que certains organes du *poulet* adulte sont extrêmement riches en substances actives, voisines des auxines végétales, alors que d'autres semblent en être totalement dépourvus.

2° Que les faits observés chez le poulet ont un caractère assez général chez l'oiseau, puisque des phénomènes comparables sont observés chez le *pigeon*, l'*étourneau* et le *goéland*.

C. — Présence et répartition de ces substances dans l'organisme du cobaye. Leur recherche dans l'hypophyse de bovin et dans différentes préparations hormonales du commerce.

L'exploration des organes du *Cobaye* a été réalisée avec une technique en tout point comparable à celle qui a été employée pour le *Discoglosse* : larve et adulte.

Les blocs d'agar portés sur les coléoptiles réactifs contiennent donc des substances actives diffusées pendant quatre heures par des masses égales de tissus broyés.

Les courbures observées dans un grand nombre d'essais, où nous avons utilisé sept cobayes, nous ont permis de noter des différences nettes dans les ripostes des plantules d'avoine sous l'influence des produits de broyage des divers organes. Suivant l'intensité des courbures enregistrées, nous avons pu répartir les organes de ce petit mammifère en trois groupes assez précis, comme chez le *Discoglosse*.

1° Ceux qui comme les centres nerveux : hémisphères cérébraux ; cervelet, moelle épinière, réduits en bouillie et mis sur la gélose, n'ont jamais rendu celle-ci active sur les tigelles d'avoine. Les produits de broyage obtenus avec le pancréas, le foie, la rate, le cœur, le tissu musculaire, utilisés d'une manière identique se sont montrés eux aussi inactifs. Donc, tous ces organes paraissent entièrement dépourvus de substances actives. Une inactivité toute pareille a été constatée pour des cubes d'agar immergés durant quatre heures dans la bile et le sang. Ces deux liquides sont par conséquent privés de produits actifs.

Dans trois essais, nous avons ajouté aux purées faites de tissus reconnus inactifs une masse égale d'eau distillée. Les macérations — conservées au frigidaire à une température oscillant entre 4° et 5° C. —, essayées de quatre en quatre heures, n'ont jamais provoqué la courbure caractéristique des auxines. Vieilles de quarante-huit heures, ces diverses préparations restent encore inefficaces. L'absence absolue de courbure montre que l'hydrolyse aqueuse des organes est ici, comme chez le *Discoglosse*, tout à fait inopérante.

2° Les organes dont les tissus finement broyés rendent, après diffusion, la gélose d'agar capable d'induire de faibles courbures sur les plantes de test. L'intensité des réponses observées indique qu'ils contiennent des quantités de substances actives appréciables, mais assez faibles, bien que constantes. L'ovaire, le testicule, le poumon, les capsules surrénales et la thyroïde peuvent être rangés dans cette catégorie. Les plus faibles courbures ont été constatées d'abord pour l'ovaire, ensuite pour le testicule. Ces deux organes sont donc les moins bien pourvus en facteurs de croissance. Par contre, dans tous nos essais, le poumon, les capsules surrénales et la thyroïde ont agi avec une force sensiblement égale. Les incurvations précisément identiques montrent que leur teneur en substances comparables aux auxines est du même ordre.

3° La troisième catégorie comprend les organes dont la purée

s'est révélée très puissante sur l'élongation cellulaire des plantules d'avoine. Les courbures intenses causées par la peau, les glandes salivaires sous-maxillaires, le rectum et le rein, montrent qu'ils sont tout particulièrement riches en substances actives. L'ordre d'énumération correspond à l'activité croissante des différents organes. De même, nous avons pu constater que l'urine est extrêmement active. Mais, alors que chez le *Discoglosse* nous avons noté une différence d'activité en faveur du rein, ici les courbures obtenues semblent attribuer une action légèrement plus grande à l'urine.

L'examen détaillé de l'intestin montre que l'extrémité antérieure n'a pas d'effet sur les plantules décapitées alors que son contenu jouit d'une efficacité très nette. La partie moyenne et les produits qu'elle renferme ont une action bien marquée. Quant au contenu rectal, il apparaît richement pourvu. Ces faits indiquent une variation quantitative de l'hormone de croissance qui s'établit le long du tube intestinal, depuis la région antérieure, totalement dépourvue, jusqu'à la zone rectale, où les doses les plus fortes sont décelées.

Dans tous nos essais, les courbures les plus vigoureuses ont été données incontestablement par l'urine, le rein, et le contenu rectal de l'intestin.

Nous avons complété cette étude en recherchant si l'hypophyse de bovins, plus grosse et par conséquent plus facile à extraire que celle du cobaye, contenait des substances fonctionnant comme les auxines végétales. Dans nos cinq premiers essais, nous avons utilisé la glande fraîche provenant d'animaux abattus le matin. Celle-ci, broyée telle quelle, n'a jamais provoqué de courbures décelant la présence de matières actives. Par la suite, nous avons préparé des extraits alcalin et acide des lobes antérieur et postérieur de l'hypophyse. L'un et l'autre se sont montrés dans cinq nouveaux essais totalement inactifs, et par conséquent dépourvus de facteurs de croissance.

De même, aucune action sur l'élongation cellulaire n'a pu être constatée par l'emploi de produits commerciaux antéhypophysaires, de prolan, d'hormones gonadotropes provenant de divers laboratoires spécialisés.

Donc, l'hypophyse, et les différentes préparations hormonales étudiées, peuvent être considérées comme ne contenant pas de matières qui agissent sur la croissance des coléoptiles d'avoine.

De l'ensemble de ces observations, il est permis de tirer les conclusions suivantes :

1° Certains organes du cobaye, l'hypophyse du bœuf et diverses préparations pharmaceutiques (prolan, hormone gonadotrope), ne contiennent pas de substances comparables aux auxines végétales.

2° D'autres en possèdent une quantité très faible.

3° Mais les plus richement pourvus sont ceux qui, comme chez le Discoglosse, assurent dans l'organisme des fonctions excrétrices importantes.

D. — Extraction acide de l'hormone de croissance.

En 1935, dans une communication où nous avons exposé les premiers résultats de nos recherches sur *Discoglossus pictus* Otth, nous indiquions qu'il ne nous avait pas été possible de déceler la moindre quantité d'hormone de croissance dans l'œuf de poule fécondé et dans l'embryon de poulet, jusqu'à dix jours d'incubation. Au moment où nous allions publier une note rendant compte de nouveaux essais réalisés dans des conditions expérimentales identiques sur l'œuf plus âgé, et montrant l'apparition tardive et à doses très faibles de ces substances, T. W. ROBINSON et G. L. WOODSIDE (1937) faisaient connaître que, non seulement l'embryon de poulet est capable de synthétiser des auxines au cours de son évolution, mais que celles-ci peuvent être décelées dans l'œuf frais. Les conclusions auxquelles ils aboutissent sont les suivantes : la quantité d'auxine présente dans l'œuf de poule incubé, voisine de 57 « unités-plantes », s'élève après six jours d'incubation à 67,5 pour atteindre, chez l'embryon de âgé treize jours neuf heures, le chiffre énorme de 4.000 unités. Ce dernier nombre représente la plus grande valeur trouvée. Ainsi, pour les auteurs américains, du premier au sixième jour inclus, l'auxine croît en fonction de l'augmentation de poids de l'embryon. Au septième jour, l'élaboration se ralentit mais à partir de la onzième journée elle redevient très active. Elle est alors proportionnelle au poids frais élevé à la puissance 3,5.

La technique adoptée par eux est très semblable à celle qu'a employée THIMANN (1934) pour l'extraction de l'auxine des tissus végétaux. Les embryons sont débarrassés de leurs membranes puis séchés avec soin sur du papier-filtre et enfin pesés. Ces opérations

terminées, ils sont découpés en morceaux et placés dans un petit creuset. Après l'acidification des tissus, obtenue en ajoutant 1 centimètre cube d'une solution d'acide chlorhydrique 1 N par gramme d'embryon pesé humide, l'auxine est extraite à cinq reprises différentes en utilisant chaque fois comme solvant 5 centimètres cubes de chloroforme. A la fin de chaque extraction partielle, le chloroforme est recueilli à l'aide d'une pipette. L'extrait total est débarrassé par filtration des impuretés et des globules sanguins, puis il est soumis à l'évaporation sous le vide à une température de 25° C. Cette dernière manipulation achevée, le résidu est repris dans 2 centimètres cubes d'eau distillée : c'est la solution aqueuse d'auxine dont la force est à déterminer.

Pour cela, ROBINSON et WOODSIDE incorporent une partie de la liqueur à un gel d'agar à 3 o/o qu'ils utilisent d'après la méthode classique de WENT.

Les plantules d'avoine, cultivées à la température de 24°5 C. dans une chambre noire où l'état hygrométrique est constamment voisin de 90 o/o, sont utilisées quand elles atteignent une longueur de 3 centimètres. Elles ne subissent, comme dans notre technique, qu'une seule décapitation.

Des écarts si grands entre les résultats de ces auteurs et les nôtres ne pouvant être attribués à une différence de sensibilité des coléoptiles réactifs utilisés vis-à-vis de l'auxine, il restait à examiner si la méthode d'extraction seule n'était pas en cause.

Nous avons alors entrepris une série d'expériences de contrôle en nous inspirant de la technique des auteurs américains. La recherche des substances actives a concerné chez le *Discoglosse* deux phases du développement : les stades blastula et gastrula, et chez le poulet, les embryons âgés de cinq et six jours.

Voici les faits que nous avons observés.

a) *Discoglosse*.

Les œufs au stade blastula sont écrasés. A 1 gramme de la purée obtenue nous avons ajouté 1 centimètre cube d'une solution chlorhydrique normale. Après une macération de 15 minutes, nous avons extrait l'hormone de croissance par le chloroforme, à deux reprises différentes, en employant chaque fois 5 centimètres cubes de ce solvant. Après évaporation sous le vide, le résidu a été dissous

dans 1 centimètre cube d'eau distillée. Nous avons immergé pendant deux heures une plaque d'agar à 3 o/o dans la solution aqueuse contenant l'extrait de blastules. Les cubes provenant de la plaque de gélose, portés sur les coléoptiles de réaction préparés comme dans nos expériences précédentes et atteignant 4 centimètres de longueur, nous ont donné des courbures faibles mais nettement caractéristiques de la présence de petites quantités d'auxine.

Les blastules utilisées au cours de ces expériences provenaient de deux pontes différentes.

La recherche des auxines par la même méthode dans l'œuf de *Discoglosse* au stade gastrula nous a permis d'enregistrer des courbures légèrement plus intenses que celles fournies par l'extrait de blastules. Ces faits ont été vérifiés sur des gastrules provenant de trois pontes dont l'évolution s'est poursuivie à une température de 19° C.

b) Poulet.

Nous avons utilisé dans un premier essai des embryons âgés de cinq jours neuf heures. Dans un second, c'est après six jours deux heures d'incubation qu'ils ont été employés. L'embryon de poulet à ces stades est entièrement enveloppé dans la cavité amniotique.

Les embryons, au nombre de quatre pour chaque expérience, sont retirés de l'œuf, puis séchés et pesés. Leur poids total est de 1 gr. 20 pour ceux de cinq jours neuf heures ; les plus âgés pèsent 1 gr. 62. Aux bouillies obtenues, nous avons ajouté 1 centimètre cube et 1 centimètre cube $1/2$ d'une solution chlorhydrique normale. L'extraction de la substance active a été réalisée avec 10 centimètres cubes de chloroforme utilisés en deux fois. La fin de l'opération a été conduite comme pour les expériences relatives aux blastules et aux gastrules de *Discoglosse*.

Nous avons observé que l'agar plongé pendant deux heures dans la solution aqueuse ainsi obtenue provoque de légères courbures des plantes de réaction. Celles-ci bien que faibles sont cependant plus intenses que celles observées au cours de nos recherches précédentes où les substances, provenant des purées d'embryons âgés de quatorze jours, sont recueillies par simple diffusion dans la gélose.

Toutefois, les phénomènes observés ici nous ont paru moins importants que ceux enregistrés pour l'extrait d'œufs de *Discoglosse* au stade gastrula.

Les résultats obtenus au cours de ces recherches permettent de conclure :

1° Que par extraction acide, on peut déceler des substances comparables aux auxines végétales dans l'œuf de *Discoglossus pictus* Otth, aux stades blastula et gastrula, alors qu'à ces deux phases de l'ontogénèse la diffusion des produits de broyage dans l'agar et l'hydrolyse aqueuse des bouillies de tissus se sont montrées tout à fait inefficaces. Les quantités trouvées par cette voie chimique dans l'œuf du batracien, à ces deux époques de la segmentation, nous ont paru inférieures à celles qui apparaissent brusquement peu avant l'éclosion du jeune animal et qui peuvent être recueillies par simple diffusion dans un bloc de gélose.

2° Que l'embryon de *poulet* soumis à l'hydrolyse acide cède de faibles quantités d'auxine à des âges où nous l'avions trouvé complètement inactif. Les courbures provoquées sur les plantes de test par les tissus des embryons de cinq et six jours soumis à ce traitement chimique sont plus intenses que celles produites par la purée d'embryon âgée de quinze jours employée telle quelle.

E. — Apparition de ces substances au cours de l'autolyse de quelques organes du *Discoglosse* et du *Cobaye*.

Soit que les substances fonctionnant comme les auxines végétales trouvées chez le batracien et l'oiseau apparaissent en grande quantité et à un stade précoce du développement comme chez le *Discoglosse*, soit qu'elles se montrent à dose très faible et à une époque avancée de l'incubation chez le poulet, il n'en est pas moins évident que c'est aux dépens des matériaux de l'œuf que l'embryon les élabore. Ces substances se formeraient, selon toute vraisemblance, à la suite de la dégradation des matières de réserves plus complexes. Le fait qu'elles sont chez l'adulte particulièrement abondantes dans les organes qui assurent des fonctions excrétrices importantes appuie cette manière de voir. C'est pour cela que nous avons recherché si quelques organes, riches en réserves, comme le foie, et qui ne se sont jamais montrés actifs sur nos plantules de

réaction, n'étaient pas susceptibles de le devenir au cours des destructions organiques profondes qui résultent de leur autodigestion. On sait en effet que si l'on extirpe aseptiquement le foie d'un animal qu'on vient de sacrifier, si on l'enferme dans un récipient pour éviter l'arrivée des germes extérieurs et si on le porte à une température voisine 38° C., il ne tarde pas à se ramollir et à se dissoudre. Cette liquéfaction, désignée sous le nom d'autodigestion (SALKOWSKI), ou encore d'autolyse (JACOBY); est due à l'action de ferments intracellulaires comparables à ceux qui interviennent dans la cavité gastro-intestinale. Elle comprend, outre la protéidolyse, une lipolyse et une glucidolyse des tissus.

Nous avons d'abord suivi les effets de l'autolyse sur le foie et le sang de *Discoglosse*. D'autres recherches faites sur le cobaye comprennent en plus l'examen de la rate.

a) *Discoglosse*.

1. — PRÉLÈVEMENT DES ORGANES ET TECHNIQUE

Les organes doivent être prélevés et conservés aseptiquement. Aussi tous les instruments employés dans les opérations qui suivent ont-ils été stérilisés par un séjour d'une heure à 120° dans un Poupinel.

Chaque *Discoglosse*, dont on a sectionné le bulbe, est plongé pendant un court instant dans un bain d'alcool à 90°. Retiré de ce liquide où les germes extérieurs septiques ont été détruits, il est placé sur sa face dorsale dans une cuvette à dissections. L'ouverture de l'animal se fait d'après une méthode classique : on incise les téguments et les muscles abdominaux suivant une ligne médio-ventrale allant de la région mandibulaire au pubis ; puis on pratique deux incisions transversales, la première tangente au bord postérieur des pattes antérieures, la seconde passant au niveau de la naissance des cuisses ; enfin, on rabat les volets ainsi découpés. La peau et la paroi ventrale sont maintenues écartées à l'aide de pinces ce qui facilite le prélèvement des organes. Ces derniers, extirpés, sont lavés dans une solution de Ringer pasteurisée, puis séchés sur du papier-filtre stérile. Le sang est prélevé directement dans le cœur à l'aide d'une petite seringue de verre.

Nous avons préparé pour nos recherches deux séries de tubes à

essais ; les uns contiennent un demi-centimètre cube de sang et les seconds un morceau de foie pesant un demi-gramme.

Après introduction de ces produits dans les tubes, l'extrémité de ceux-ci est flambée puis fermée par un tampon d'ouate stérilisée. Chaque tube est alors recouvert d'un petit cornet de papier et placé dans l'étuve réglée à 38°. L'autolyse n'a pas été poursuivie au delà de quarante-huit heures.

En même temps, on a prélevé du sang et des morceaux de foie qui sont conservés à l'état frais dans la glacière à la température de + 5° C. Utilisés suivant la technique que nous avons adoptée pour la recherche de l'auxine dans l'organisme du *Discoglosse* et du *cobaye* adultes, ils doivent rester inactifs sur les plantules de réaction. Celles-ci constituent, dans les expériences présentes, les coléoptiles témoins.

2. — INTRODUCTION DE L'AGAR DANS LES PRODUITS SOUMIS A L'AUTODIGESTION

Les plaques de gélose utilisées ici sont les mêmes que celles qui ont été employées dans les recherches précédentes. Dès qu'elles sont sorties de la réserve où elles sont conservées dans l'alcool à 90°, elles sont lavées à l'eau distillée stérile, à deux reprises pendant une demi-heure.

Deux tubes à essais, l'un contenant du sang, l'autre du foie, sont retirés de l'étuve. Ils sont débouchés après flamblage du coton. Le morceau de foie, qui est plus ou moins ramolli suivant la durée de l'autolyse, est écrasé s'il y a lieu contre la paroi de verre à l'aide d'une aiguille lancéolée stérile. Une plaque d'agar est alors introduite au fond du tube, sur laquelle est étendu le produit broyé. De même, une seconde plaque est immergée dans le sang. Les deux récipients, soigneusement rebouchés, sont mis dans le frigidaire ; on arrête ainsi, à un moment assez précis, l'action des diastases autolytiques.

Ces différentes manipulations terminées, deux autres plaques d'agar, qui seront utilisées pour les plantes témoins, reçoivent la même quantité de tissus correspondants mais conservés à basse température.

Les diverses géloses sont essayées quatre heures après sur les plantules de réaction.

3. — ACTIVITÉ DU FOIE ET DU SANG AUTOLYSÉS

Les cubes prélevés dans les plaques de gélose où les produits autolysés ont diffusé pendant six heures, portés sur des coléoptiles préparés suivant la technique normale, nous ont donné de faibles courbures témoignant de la présence de petites quantités de substances actives.

L'activité du tissu hépatique paraît déjà, à cette période peu avancée de l'autodigestion, légèrement plus forte que celle du sang.

Par contre, les blocs de gélose ayant reçu le liquide sanguin et la bouillie de foie conservés à l'état frais sont restés inactifs sur les plantes de réaction.

Après dix heures d'autolyse, le foie et le sang confèrent à la gélose une action encore plus grande sur les coléoptiles, ce qui indique un enrichissement net en matières actives. A cette phase de la destruction des tissus, le foie est nettement plus actif que le liquide sanguin.

La bouillie de foie, comme d'ailleurs le sang, maintenus à basse température sont toujours sans action sur les tigelles d'avoine.

Au bout de quarante-huit heures, le foie presque complètement liquéfié devient extrêmement actif sur les coléoptiles. Il contient donc une quantité énorme de substances agissant comme les hormones de croissance des plantes. Le sang est lui aussi richement pourvu à cette époque.

Les tissus témoins continuent à se montrer inactifs, ce qui est conforme aux résultats précédemment acquis.

En général dans nos essais, les blocs portés sur les coléoptiles sont prélevés dans un gel ayant reçu pendant quatre heures les produits de diffusion émis par les tissus autodigérés. Mais nous avons pu vérifier par la suite qu'il suffit de deux heures de contact pour que l'agar acquière une forte activité. Quand l'autolyse est très avancée, — au bout de quarante-huit heures, par exemple —, une plaquette de gélose immergée seulement pendant une heure dans le liquide noirâtre qui est exsudé des organes devient très active.

Mais il restait à savoir si l'hormone d'élongation cellulaire, décelée dans les différents autolysats, pouvait être rapportée, d'une façon complète, aux processus chimiques déclenchés dans le phéno-

mène d'autolyse et non pas, au moins en partie, à l'activité métabolique de microbes introduits accidentellement, par une faute de technique, au cours des diverses manipulations. Nous avons procédé pour cela à la recherche de microbes sur frottis de produits autolysés et reconnus actifs sur le test avoine, en employant la méthode de coloration de GRAM. Cette dernière s'étant toujours montrée négative, il semble que l'élaboration des produits hormonaux détectés peut être imputée uniquement aux processus chimiques d'autodigestion.

En résumé ces faits montrent :

1° Que des substances, diffusibles dans l'agar et qui possèdent une action physiologique comparable à celle des auxines végétales, apparaissent en abondance au cours de l'autolyse du foie et du sang de *Discoglosse* qui, normalement, en sont dépourvus.

2° Que la quantité de matières actives formée s'accroît avec la durée de l'autolyse.

b) *Cobaye*.

Comme chez le *Discoglosse*, les organes du cobaye ont été prélevés et conservés aseptiquement. La conduite des opérations d'autolyse s'est faite aussi dans des conditions identiques. Nous avons simplement ajouté pour ce dernier animal l'étude de la rate.

Les expériences réalisées avec l'agar contenant les produits actifs diffusés par les tissus autolysés pendant six, vingt-quatre et quarante-huit heures nous ont permis d'observer ici des phénomènes de même ordre que pour le batracien.

Alors que les purées obtenues par le broyage de rate et de foie frais sont manifestement incapables de communiquer aux blocs de gélose où elles ont diffusé une action sur les plantules d'avoine, les cubes provenant de l'agar mis au contact des mêmes organes autolysés pendant six heures donnent des courbures assez nettes qui montrent déjà l'apparition de matières auxiniques.

Les mêmes faits se constatent avec le sang : s'il est frais, aucune courbure n'est décelable, mais après six heures d'autodigestion, il permet à la gélose d'induire des incurvations assez nettes.

Là encore, nous avons pu voir qu'à cette époque l'activité du tissu hépatique l'emporte sur celle du sang. Celle de la rate paraît intermédiaire.

Au fur et à mesure que la destruction des tissus s'opère, ceux-ci deviennent plus actifs. Dès vingt-quatre heures, les courbures obtenues sont très grandes et indiquent que la quantité d'hormone est considérable. Cependant, l'autolyse de la rate semble ne pas libérer autant d'hormone que celle du foie.

Enfin quand l'autodigestion des tissus atteint quarante-huit heures, la quantité d'auxine paraît encore plus grande. Un bloc de gélose immergé pendant une heure dans une solution faite d'un quart de centimètre cube du liquide noirâtre qui s'écoule du foie lysé et de cinq centimètres cubes d'eau distillée, est capable d'induire de fortes courbures. Les solutions aqueuses de même titre, obtenues avec la rate et le sang, sont moins actives et ceci est surtout vrai pour le sang.

De même que pour le *Discoglosse*, la coloration de GRAM sur les frottis de tissus liquéfiés a toujours été négative.

Le comportement des produits résultant de l'autolyse de ces organes et tissus du *cobaye* conduit à admettre :

1° Que le foie et la rate du cobaye qui, à l'état frais, paraissent ne pas contenir de substances actives fonctionnant comme les auxines végétales, peuvent en libérer de grandes quantités quand ils sont autolysés.

2° Que le liquide sanguin est dans le même cas.

3° Que ces substances peuvent facilement être recueillies dans un gel d'agar à 3 o/o.

4° Et qu'enfin, la teneur en auxine, faible au début de l'autolyse, s'accroît très rapidement et devient considérable au bout de quarante-huit heures.

CHAPITRE III

LA RECHERCHE DE SUBSTANCES COMPARABLES AUX AUXINES VÉGÉTALES PENDANT L'ONTOGÉNÈSE DES INVERTÉBRÉS

L'exposé du chapitre II montre que l'on peut mettre en évidence dans les tissus de divers animaux, chez l'adulte comme chez l'embryon, des substances diffusibles dans un gel d'agar et qui possèdent une action physiologique comparable à celle des « phytohormones » de WENT. Pour compléter cette étude, nous avons recherché si des phénomènes voisins de ceux que l'on avait observés chez ces Vertébrés ne se produisaient pas au cours de l'évolution de certains Invertébrés et plus particulièrement de quelques Insectes. Nos essais ont d'abord porté sur *Bombyx mori* L., puis sur *Lucilia sericata* ⁽¹⁾ Meig.

A. — Chez *Bombyx mori* L.

a) Place dans la systématique et cycle biologique.

Le *Bombyx* du mûrier (*Bombyx mori* L.) appartient à l'ordre des Lépidoptères. Son développement est caractérisé comme celui de la plupart des Insectes par l'existence de stades morphologiques très différents les uns des autres : œuf, larve ou chenille, chrysalide et imago ou papillon.

Les œufs du *Bombyx* appelés communément « graines de ver à soie » ont une forme lenticulaire. Fraîchement pondus, ils sont agglomérés par une matière gommeuse ou vernis sécrétée par les glandes mucipares. Ils ont alors une couleur jaune paille qu'ils perdent au bout de quatre ou cinq jours pour devenir gris violet s'ils ont été fécondés. La teinte foncée conservée jusqu'à la veille de

(¹) Je dois cette détermination à M. le docteur VILLENEUVE DE JANTIL.
Henri Berrier.

l'éclosion indique que l'œuf a subi un début de segmentation. Cette ébauche de développement aboutit à la formation de la strie germinale, ou bandelette germinative, formée de seize métamères et à la constitution des membranes embryonnaires. L'œuf a atteint alors sa maturité. A ce stade, son évolution est bloquée jusqu'au printemps suivant ; elle ne reprend que quand la température ambiante s'élève suffisamment. Pendant toute cette période d'inactivité, que l'on appelle « diapause hivernale » et qui dure une dizaine de mois, l'embryon est à l'état de vie latente. Aussi la conservation des œufs au voisinage de 5° est-elle indispensable pour obtenir une éclosion régulière et des vers vigoureux.

Si l'œuf est soumis après ce repos à une température allant de 12 à 20° (dans la pratique, on se sert d'incubatrices qui sont des étuves à température et à humidité réglables), les processus embryogéniques sont à nouveau déclenchés. Trois à quatre jours après la mise en incubation, apparaissent les rudiments des appendices (antennes, mandibules, mâchoires et pattes thoraciques). Puis, plus ou moins vite suivant la température, s'ébauchent dans la région céphalique la lèvre supérieure et la lèvre inférieure. Peu de temps après, les stigmates deviennent visibles sur les trois anneaux thoraciques et les huit premiers anneaux abdominaux. Enfin la tête définitive se forme par fusion des quatre premiers segments de la strie. A cette phase du développement, l'embryon exécute une véritable rotation sur lui-même de façon à tourner en dedans sa face ventrale d'abord externe, et les trois régions de l'intestin s'ouvrent l'une dans l'autre. Peu de temps avant l'éclosion, l'air pénètre dans les trachées et le ver absorbe ce qui reste du vitellus ainsi que la membrane d'enveloppe. Puis la coque blanchâtre se rompt à l'endroit du micropyle : c'est l'éclosion.

Le jeune ver qui vient de naître n'a guère que trois millimètres, il est recouvert de longs poils et s'alimente très tôt. La chenille grossit rapidement et peut atteindre le terme de son développement en quarante jours si la température est suffisante et la nourriture abondante. Mais quelle que soit sa durée, l'évolution complète du *Bombyx* comprend cinq périodes ou « âges » depuis l'éclosion jusqu'à la nymphose, séparées par les mues au nombre de quatre, crises pendant lesquelles la larve cesse de s'alimenter. Ces mues sont caractérisées en outre par le renouvellement de la cuticule qui recouvre le corps et tapisse intérieurement certains organes, en

particulier : les parties antérieure et postérieure du tube digestif, les tubes de Malpighi, les trachées et diverses glandes. A ces changements s'ajoutent des modifications profondes dans la structure cellulaire et le fonctionnement de ces divers organes. L'activité respiratoire des larves est très intense, surtout lors de la dernière mue. La véritable croissance s'effectue entre les mues.

Lorsque le ver a atteint le terme de sa vie larvaire, il cesse de s'alimenter, élimine par des déjections abondantes tous les résidus non digérés, et se prépare à la montée. Il tisse en trois ou quatre jours un cocon soyeux à l'abri duquel il subit, deux à trois jours après l'achèvement du cocon, une cinquième mue ou métamorphose qui aboutit à la chrysalide, laquelle présente extérieurement, jusqu'à la sortie du papillon, le même aspect. Malgré cette apparence d'inertie, elle est le siège d'une activité intense, de changements internes considérables qui aboutissent à la destruction de la larve et à l'édification d'une nouvelle structure en rapport avec la vie différente de l'imago.

Enfin, quinze à vingt jours après, suivant la température, le papillon est prêt à sortir. Il excrète alors de son jabot le liquide alcalin qui y est contenu pour amollir les brins de soie et perce le cocon.

L'accouplement a lieu peu de temps après l'éclosion.

b) *Matériel et conditions d'élevage.*

Les œufs employés pour mes élevages appartiennent à la race « albène » et m'ont été fournis par une maison spécialisée de France ⁽¹⁾. L'incubation de la « graine » et la croissance des larves se sont déroulées à une température voisine de 22° C. La nourriture très fraîche, constituée exclusivement de feuilles de mûrier, a été toujours abondante. La durée du développement jusqu'à la nymphose exclusivement, y compris la période d'incubation, a varié entre cinquante-quatre et cinquante-huit jours. Pour tous mes essais, les blocs d'agar portés sur les coléoptiles réactifs ont reçu les substances diffusées par des masses égales d'œufs, de larves, de chrysalide et d'insecte parfait.

(1) Maison LAURENT DE L'ARBOUSSET, à Alès (Gard).

c) Recherches des substances actives dans l'œuf fécondé jusqu'à un stade qui précède de peu l'éclosion.

Pour l'étude des œufs n'ayant subi aucun commencement de développement embryonnaire, nous avons recueilli les pontes émises par des femelles qui venaient de subir l'accouplement. Les œufs, débarrassés par immersion dans l'eau du vernis qui les agglutine, sont séchés puis écrasés dans un verre de montre à fond plat à l'aide d'une aiguille lancéolée. La bouillie obtenue est alors placée sur une plaque d'agar; elle y reste le même temps que dans les expériences faites sur les vertébrés, c'est-à-dire quatre heures. Les cubes de gélose se sont montrés inactifs sur les plantules d'avoine dans chacun de nos huit essais. L'œuf fécondé frais paraît donc totalement dépourvu de substances actives.

De même, des pontes utilisées cinq jours après la fécondation, et dont la couleur gris violet indique que le début de segmentation aboutissant à la bandelette germinative s'est effectué, sont restées sans action sur les coléoptiles dans quatre essais. Les pontes, à ce stade précoce de l'embryogénèse, sont par conséquent privées, elles aussi, de ces matières.

Après la diapause hivernale, l'œuf est encore complètement inactif.

Soumis à l'incubation pendant quelques jours, à la température de 22° C., il se montre toujours incapable de provoquer des courbures. Cette inaction, constatée dans huit essais, persiste durant les douze premiers jours du développement.

Enfin, des purées faites avec des œufs correspondant à ces trois stades, — œuf frais et fécondé, œuf ayant subi la diapause hivernale, œuf incubé jusqu'à douze jours inclus —, soumises à l'hydrolyse aqueuse par adjonction aux produits de broyage d'une quantité égale en poids d'eau distillée, ne libèrent pas davantage de substances actives. Cette technique, adoptée dans quatre séries d'expériences n'a rien donné, même après quarante-huit heures de macération.

Mais, à une époque plus avancée de l'incubation, des phénomènes d'activité se déclenchent.

En effet, dès la fin du quatorzième jour du développement, la purée d'œufs peut induire une très faible courbure des tigelles d'avoine. L'intensité des incurvations obtenues indique que l'œuf,

à cette phase de l'ontogénèse, contient des traces de substances comparables dans leur effet physiologique aux auxines végétales. Ces courbures, de faible amplitude, se répètent les jours suivants jusqu'à l'éclosion qui s'est toujours produite pour les huit pontes étudiées entre les quinzième et dix-septième jours d'incubation. Ainsi, dans les conditions expérimentales où nous opérons, des traces très faibles, mais constantes, de facteurs de croissance sont décelées dans l'œuf ayant subi treize jours d'incubation. Ces substances actives persistent à doses toujours aussi faibles jusqu'au terme de l'évolution embryonnaire.

d) Leur présence dans la larve à ses différents âges.

Des purées faites avec des vers qui viennent d'éclore et n'ont jamais reçu de nourriture ont également sur les plantes une action qui se traduit par des courbures aussi faibles que celles obtenues avec les produits de broyage d'œufs incubés à un stade qui précède de peu l'éclosion. Ces expériences montrent que la larve qui vient de naître, et qui n'a pas encore absorbé de matières nutritives étrangères, contient une quantité extrêmement petite de substances actives.

Mais dès que les jeunes vers s'alimentent, et jusqu'à l'époque de leur vie précédant la montée qui annonce le filage du cocon, les bouillies obtenues en les broyant finement, deviennent de plus en plus actives sur les plantes décapitées. Les ripostes vigoureuses des coléoptiles indiquent la présence d'une grande quantité d'hormone de croissance.

C'est au quatrième âge, période de la vie larvaire atteinte généralement au bout de vingt-deux à vingt-quatre jours dans les conditions de température et d'alimentation déjà indiquées, et au cinquième âge, représenté par des larves âgées de trente-deux à trente-quatre jours, que les purées de chenilles provoquent les courbures les plus intenses. Ainsi, c'est à ces deux époques caractérisées par le fort appétit des larves (petite et grande frêzes) que celles-ci contiennent les quantités les plus élevées de substances actives.

A la fin de chaque âge, c'est-à-dire aux périodes critiques qui correspondent aux mues et où la larve cesse de s'alimenter, les purées de chenilles sont inefficaces sur les coléoptiles de réaction. Pour dix essais pratiqués avec des bouillies faites de larves prises à

la fin de la mue, deux fois seulement nous avons enregistré de faibles courbures décelant la présence d'une quantité infime de facteurs pouvant provoquer l'élongation cellulaire. Les huit autres fois les produits de broyage se sont révélés tout à fait inactifs. On peut donc considérer les substances auxiniques comme complètement disparues à ces époques de jeûne où la larve est en train de muer.

Enfin le ver monté, qui commence à émettre les premiers fils pour le tissage de son cocon, n'a provoqué une très légère courbure que trois fois sur onze expériences. Nous estimons donc qu'à ce stade qui fait suite à la période de maturité de la larve, au cours de laquelle celle-ci a jeûné et a expulsé sous forme de déjections abondantes tous les résidus non digérés qui encombraient son tube digestif, le ver ne contient pas de substances actives.

De même, la purée obtenue en écrasant la larve enfermée dans le cocon achevé ne manifeste aucune action de croissance sur les coléoptiles de test. Le *Bombyx* est donc encore à ce moment privé d'hormone.

Mais au bout de deux jours environ, les tissus broyés présentent une légère activité qui indique que les substances auxiniques sont réapparues à petites doses. Pendant les troisième et quatrième journées, les courbures obtenues sont de plus en plus nettes. Cet état de choses se maintient avec autant de force jusqu'à la fin du cinquième jour, moment où la mue desséchée est rejetée dans le cocon.

Entre les cinquième et septième jours, les liquides de la chrysalide exercent une action qui dépasse légèrement celle qui a été constatée aux précédents stades de la nymphose. L'activité reconnue paraît d'autant plus grande que les produits histolysés sont plus fluides. Cependant la valeur des courbures observées au cours de la vie nymphale est très inférieure à celle des incurvations induites par le tissu larvaire de n'importe quel âge. Elle surpasse toutefois celle de l'embryon.

Dès le huitième jour, les bouillies de la nymphe exercent une influence de plus en plus modérée. Les faibles réponses des plantules ne permettent de déceler que des quantités extrêmement réduites de corps de croissance. Ce taux qui indique une pauvreté évidente se prolonge cependant jusqu'à l'éclosion.

Enfin, les tissus broyés de l'imago confèrent à la gélose une légère action sur les plantules d'avoine qui marque la persistance chez l'adulte d'une dose très minime d'auxine.

Les déjections nous ont donné à toute époque de la vie larvaire des incurvations constantes, les plus intenses que nous ayons enregistrées.

Je n'ai tenté que deux essais sur l'intestin de la chenille, débarrassé des produits alimentaires qu'il contenait par un lavage dans l'eau distillée, et finement broyé; il a donné dans l'un et l'autre cas une purée très active. Ces expériences concordant, quoique peu nombreuses, nous pouvons considérer l'intestin comme vraiment riche en substances du type auxine.

Ainsi, dans les conditions expérimentales où nous avons travaillé, les faits observés permettent de formuler les conclusions suivantes:

1° L'œuf fécondé de *Bombyx mori* L., et les premiers stades de segmentation, ne contiennent pas de substances fonctionnant comme les auxines végétales.

2° Ces substances apparaissent dans l'embryon, en quantité très faible, à un stade qui précède de peu l'éclosion; elles persistent en quantité très élevée durant l'existence larvaire de l'insecte, sauf aux courtes périodes de crise qui caractérisent les mues.

3° Les quantités maxima de matières actives se rencontrent aux époques où la larve s'alimente d'une manière intense. Les excréments sont toujours abondamment pourvus, quel que soit l'âge du ver.

4° Lorsque la larve s'est enfermée dans le cocon, elle paraît démunie de corps de croissance.

5° Ceux-ci se montrent à nouveau en quantité appréciable dans la chrysalide, au moment où la plupart des tissus larvaires histolysés sont transformés en bouillie. Puis ils diminuent assez vite au cours des remaniements qui aboutissent à l'insecte parfait.

B. — Chez *Lucilia sericata* Meig.

Après nos recherches sur *Bombyx mori* L. où nous avons pu déceler, aux différents stades de l'évolution, des substances fonctionnant comme les auxines, nous nous sommes demandé si ces larves phytophages ne trouvaient pas dans leur alimentation des substances actives toutes formées. En effet les excréments, comme nous l'avons remarqué, contiennent d'une façon constante des quantités énormes de produits actifs dont l'origine végétale ne peut être

contestée. Aussi pour compléter notre travail sur les insectes, avons-nous choisi, comme deuxième sujet expérimental, une mouche à viande *Lucilia sericata* Meig, dont la larve helminthoïde a un régime alimentaire très différent. Afin de ne pas introduire dans la nourriture carnée des jeunes asticots des substances actives toutes formées, nous les avons alimentés avec du muscle de cheval soigneusement dégraissé. Effectivement le tissu musculaire du cheval, comme celui du Discoglosse et du cobaye, n'a jamais au cours de nombreux essais, provoqué la courbure des coléoptiles décelant la présence de substances capables d'activer l'élongation cellulaire.

a) *Diagnose, mœurs et cycle biologique.*

Lucilia sericata est une mouche très commune, de coloration verte aux reflets métalliques. Elle est abondante en toute saison dans le Midi de la France et l'Afrique du Nord. Dans les régions plus froides, on ne la rencontre qu'en plein été. La tête de ce diptère est légèrement déprimée. Les antennes, dont le troisième article est le quadruple du deuxième, porte un style plumeux. Leur épistome est dépourvu de saillie. L'abdomen, court et arrondi, est remarquable par sa rutilance. On reconnaît facilement cette Lucilie à la petite écaille blanc jaunâtre sise à la racine de l'aile, sur le bord antérieur.

Cette mouche jouit à notre époque d'une grande réputation thérapeutique. Sa larve est en effet employée en chirurgie pour le traitement des plaies suppurantes et en particulier des ostéomyélites. Utilisée d'abord en Amérique par le chirurgien W. S. BAER, elle est devenue d'un emploi assez courant en France à la suite des travaux de E. BRUMPT. Deux techniques sont en usage : dans la première, les larves aseptiques sont mises à même dans la plaie ; ce sont des extraits que l'on applique dans la seconde : on les obtient en broyant des larves dans de la solution physiologique ; ils ne sont utilisés qu'après passage au travers d'une série de filtres Berkefeld de plus en plus fins.

Le cycle biologique de *Lucilia sericata* est particulièrement rapide et régulier quand il se poursuit dans des conditions de température et d'humidité satisfaisantes. Mais dans la nature, il se trouve compliqué du fait que les œufs sont déposés sur le bord des plaies

que portent les animaux. Les larves éclosent là et déterminent des myases très graves qui entraînent chaque année la mort de milliers de moutons en Angleterre, en Australie et aux Etats-Unis. D'après certains auteurs, elle peut provoquer des accidents analogues chez l'homme. Les effets néfastes constatés dans la nature, d'une part, et l'action bienfaisante qui se révèle en clinique, d'autre part, constituent un véritable défi à la logique. BRUMPT l'explique en admettant l'existence, parmi les larves de Lucilie, d'espèces à affinités différentes. Aussi y a-t-il lieu de faire un choix très rigoureux de la souche à employer pour les besoins chirurgicaux.

De l'œuf sort, comme chez tous les muscides, un minuscule petit ver. Son évolution intense lui permet d'atteindre rapidement la longueur de 1 centimètre. Après ce stade larvaire, se produit la nymphose. Le revêtement chitineux de l'asticot se décolle de la peau, s'épaissit et brunit; c'est la pupe, dans laquelle la larve se transforme en nymphe. La métamorphose terminée, l'imago s'échappe en rompant une double enveloppe : intérieurement le tégument nymphal, extérieurement la pupe. C'est grâce au mécanisme curieux du sac frontal, ou ampoule frontale, qui se gonfle rythmiquement, que la jeune mouche fait éclater la partie antérieure de la pupe et se libère. L'éclosion de l'adulte s'opère, comme chez les muscides, au cours des heures chaudes de la journée, jamais pendant la nuit.

b) *Technique d'élevage de Lucilia sericata.*

L'élevage des jeunes larves a été fait suivant une méthode classique. Nous nous sommes aisément procuré une souche de laquelle ont dérivé toutes les générations que nous avons utilisées. Une tête de squalé abandonnée dans un coin ombragé du jardin de la Station zoologique d'Alger, a été rapidement visitée par les Lucilies. Nous avons surveillé leur ponte et recueilli les œufs de l'une d'entre elles qui ont été placés sur un morceau de viande de cheval dégraissée. Les pupes provenant de cette ponte ont été déposées dans une boîte de Petri au fond d'une cage faite de grillage métallique. Leur évolution s'est poursuivie dans une salle très chaude située à l'étage supérieur du laboratoire où la température, à peu près stationnaire, est à partir de mai voisine de 26°. Aucun dispositif spécial n'a été prévu pour maintenir un degré hygrométrique assez élevé, l'atmosphère à Alger étant toujours humide. Les mou-

ches adultes nées quelques jours après ont été nourries avec une liqueur faite de dix cuillerées à café de miel pour 300 centimètres cubes d'eau dont on imbibe des tampons de coton hydrophile que l'on dispose au fond de la cage, dans d'autres boîtes de Petri. Un tampon imbibé seulement d'eau pure est ajouté. Sept à huit jours après l'éclosion, la mouche adulte, qui va nous fournir notre matériel d'études, est prête à pondre. La ponte s'effectue sur des morceaux de viande de cheval dans lesquels on a fait plusieurs incisions, car les femelles recherchent les coins sombres de la chair pour y abriter leurs œufs. Des fragments de muscle porteurs d'œufs sont retirés le soir et placés dans un petit cristallisoir. On y ajoute une quantité complémentaire de viande pour assurer la nourriture des asticots. Le récipient est alors recouvert par une toile très fine que l'on fixe fortement avec une ficelle bien serrée, précaution indispensable pour empêcher les larves de se faufiler au dehors. Dans les nombreux élevages que nous avons suivis, l'éclosion s'est toujours effectuée en moins de vingt-quatre heures et toujours entre quatre et huit heures du matin ⁽¹⁾. Ces larves ne tardent pas à convertir les morceaux de viande en une masse informe et nauséabonde. Nourries abondamment, elles grossissent vite et le cycle biologique est particulièrement rapide. Elles ont leur taille maxima à l'âge de trois à quatre jours. Entre les quatrième et cinquième jours, elles fuient la lumière, vident leur tube digestif qui se ferme au niveau de ses deux extrémités et qui alors n'est plus visible par transparence. Il convient à ce stade d'enlever la toile qui ferme le cristallisoir et de mettre ce dernier dans un autre, plus grand et surtout plus haut, dont le fond est rempli de poudre de liège très fine. Ce grand cristallisoir est à son tour fermé par une toile solidement ficelée. Les larves sortent facilement du premier récipient et se répandent dans l'espace compris entre le bord de ce dernier et couvercle du second. Elles s'enfoncent dans la poudre de liège où elles effectuent leur pupation. A la fin du septième jour, les nymphes en tonnelet sont toutes achevées. L'éclosion a lieu, en général, aux treizième et quatorzième jours.

(1) A diverses reprises, nous avons constaté que des pontes recueillies le matin avant dix heures, et d'autres émises seulement l'après-midi entre quinze et seize heures, éclosaient toutes le lendemain entre cinq et sept heures.

c) *Recherches de matières actives, au cours des différents stades du cycle évolutif de Lucilia sericata Meig.*

Une seule génération permet de nombreux essais expérimentaux car il est facile de prélever larves et pupes des appareils d'élevage à différents âges de leur évolution.

La recherche de substances comparables aux auxines végétales a d'abord été effectuée sur l'œuf à un stade qui précède de peu l'éclosion. Le nombre des essais a été de six. Les œufs examinés proviennent toujours de pontes émises assez tard dans l'après-midi qui précède le jour où l'hormone de croissance est déterminée dans les produits broyés. Les pontes sont lavées dans l'eau distillée, puis séchées sur du papier-filtre. Pour en ralentir le développement, nous les avons maintenues dans la cave du laboratoire à une température voisine de 16° C. Dans ces conditions, le jour des expériences, à neuf heures, aucune ponte n'est éclos. Les œufs sont alors écrasés, comme ceux du *Bombyx*, dans un verre de montre et la bouillie obtenue est étendue sur une plaque de gélose. Celle-ci, après quatre heures de diffusion, est débitée, comme d'habitude, en petits cubes égaux. Ces derniers, portés sur les plantes de réaction provoquent, en un peu moins de deux heures, de faibles courbures qui décèlent la présence d'une quantité extrêmement petite de substances actives.

Des purées faites avec des larves venant de naître, et n'ayant ingéré aucune matière nutritive étrangère, nous ont permis d'observer — dans six séries d'expériences — des phénomènes semblables.

Les jeunes asticots ont été obtenus en laissant se développer sur une plaque de verre des pontes qui ont été soigneusement lavées et séchées au moment de leur capture. A peine sortis de l'œuf, ils sont finement broyés. La bouillie réalisée confère toujours à la gélose une faible action sur les plantules d'avoine. Les courbures observées, de même ordre de grandeur que celles provoquées par l'œuf à un stade proche de l'éclosion, indiquent donc l'existence d'une quantité également minime de matières hormonales dans le ver éclos non nourri.

Les épreuves expérimentales pratiquées sur la larve alimentée à ses différents âges sont conduites d'une manière identique. Les vers n'absorbent la viande qui leur est donnée que lorsque celle-ci

est complètement liquéfiée par les suc digestifs qu'ils émettent. Aussi, quand on les retire des boîtes de Petri, où se poursuit leur développement, sont-ils imprégnés d'une sanie mal odorante. Ce n'est qu'après les avoir débarrassés de cette liqueur nutritive noirâtre, par un lavage dans l'eau distillée et un séchage convenable sur du papier-filtre, qu'ils sont utilisés. Nos essais, réalisés sur huit générations de vers, montrent que la purée de larves devient plus active dès que l'alimentation est assurée. Les réponses des plantes, de jour en jour plus intenses, indiquent nettement que la quantité de substances actives va croissant.

Les courbures les plus fortes sont déclenchées par les produits de broyage provenant d'asticots âgés de deux et trois jours. C'est donc à cette période de son existence que la larve, devenue très vorace, et dont la croissance se poursuit rapide, est le plus riche en substances provoquant l'élongation cellulaire des coléoptiles.

Mais dès la fin du quatrième jour, la bouillie devient de moins en moins active et, peu avant la fin du cinquième jour, les produits de broyage n'influencent plus la croissance des tigelles d'avoine. Ainsi à ce stade du développement, qui est celui où le ver s'apprête à se transformer en pupe, l'organisme apparaît comme totalement dépourvu de facteurs de croissance. L'examen de l'asticot dont les tissus se sont révélés inactifs permet de voir que le tube digestif est complètement débarrassé de toute matière nutritive.

La larve enfermée dans sa pupe (sixième et septième jour) n'exerce pas d'influence sur les plantules de réaction, du moins l'ai-je constaté six fois sur huit essais (Deux fois, j'ai observé de faibles courbures, fort peu expressives).

Ce stade d'indifférence cesse bien vite. A la fin du septième jour, les produits de broyage induisent à nouveau de légères courbures qui décèlent une petite quantité de facteurs de croissance. C'est lorsque les tissus de la nymphe sont complètement réduits en bouillie par l'histolyse qu'ils communiquent à l'agar l'action la plus marquée sur les plantes de test. Ceci indique que la quantité de substances actives est fort appréciable à cette époque de la vie nymphale.

Dès le dixième jour, les ripostes des coléoptiles perdent de leur vigueur ; la teneur en produits actifs décroît de plus en plus.

La mouche près d'éclore ne donne plus de courbure caractéristique des auxines ; elle en paraît totalement dépourvue.

Ces expériences nous permettent de formuler les conclusions suivantes :

1° Des substances agissant comme les auxines végétales apparaissent dans l'œuf de *Lucilia sericata* Meig. à un stade proche de l'éclosion, et persistent dans la larve éclos jusqu'au moment où celle-ci cesse de s'alimenter.

2° La teneur maxima en substances auxiniques s'observe chez le ver le troisième jour, au moment où, devenu énorme, il se nourrit abondamment.

3° Ces matières ne se retrouvent plus chez la larve qui s'enfouit pour opérer sa nymphose, ni dans celle qui vient de s'enfermer dans sa puppe.

4° Elles réapparaissent progressivement au cours de l'histolyse de la nymphe, et elles sont fort appréciables quand les tissus sont complètement liquéfiés.

5° Elles se raréfient de plus en plus jusqu'à l'éclosion de l'insecte parfait, et la mouche adulte paraît ne plus en contenir.

Résumé des chapitres II et III.

Comme un résumé particulier a été donné à la fin de chaque paragraphe, nous nous contenterons d'exposer ici très brièvement les résultats d'ensemble qui découlent des expériences relatées dans les deux précédents chapitres.

La méthode que j'ai suivie nous permet de retenir les faits principaux suivants :

Chez le *Discoglosse*, les éléments sexuels : sperme et ovule, l'œuf fécondé, ainsi que l'œuf en voie de segmentation, ne contiennent pas de substances actives. Celles-ci apparaissent en quantité considérable à un stade précoce et bien défini de l'embryogénie et persistent pendant toute la vie larvaire.

Uniformément réparties dans l'embryon qui va naître, elles ne tardent pas à se distribuer d'une manière irrégulière dans la jeune larve éclos. Cette ébauche de localisation s'accroît au fur et à mesure que le têtard devient plus âgé.

L'existence des corps de croissance est encore manifeste chez l'adulte où ils se distribuent d'une façon hétérogène. Alors que certains organes en sont totalement privés, d'autres, qui assurent

dans l'organisme un rôle excréteur important, sont richement pourvus.

La *carence alimentaire* plus ou moins prolongée provoque chez la jeune larve, comme chez l'adulte, d'abord la régression, puis enfin la disparition totale des substances travaillant comme les auxines végétales.

Chez la *Poule*, on constate une absence d'auxines dans les éléments constitutifs de l'œuf fécondé (blanc, jaune, cicatricule) ainsi que dans l'œuf incubé jusqu'au treizième jour. A cette époque tardive du développement, elles se révèlent en quantité extrêmement faible. Chez l'*adulte*, ce sont encore les organes chargés de fonctions excrétrices importantes, comme le rein et l'intestin, qui sont très riches en ces facteurs de croissance.

Enfin la prospection des organes du *Cobaye* montre que ces substances hormonales sont absentes de certains organes comme chez le *Discoglosse*, qu'elles existent en quantités faibles dans d'autres et qu'on les rencontre abondamment dans les parties de l'organisme remarquables par leur activité excrétrice.

L'apparition d'auxine peut être provoquée par l'*hydrolyse acide* dans les *blastules* et les *gastrules* de *Discoglosse*, stades de la vie embryonnaire où notre technique de diffusion et l'extraction aqueuse se sont montrées inopérantes.

Le même résultat est obtenu sur l'œuf de poule incubé âgé de cinq et six jours.

Les produits provenant de l'*autolyse* de certains tissus et organes du *Discoglosse* (foie et sang), du *Cobaye* (foie, rate, sang), émettent des substances actives, alors que les purées de ces mêmes éléments, pris à l'état frais, se sont toujours montrées inertes dans les conditions expérimentales où nous avons opéré.

Pour les *Invertébrés*, on observe des phénomènes du même ordre :

L'œuf de *Bombyx mori* fraîchement pondu, comme celui qui a subi la diapause hivernale, est dépourvu de substances actives. C'est peu avant l'éclosion qu'il en libère de petites quantités. L'auxine apparue persiste dans le ver éclos, devient extrêmement abondante dans les individus plus âgés qui se nourrissent, et se trouve en masse énorme dans les excréments de la chenille. Mais, chez le ver qui va filer son cocon, on ne détecte plus de substances actives. Celles-ci se montrent à nouveau au cours de l'*histolyse* nymphale

en quantité faible mais appréciable, puis se raréfient pendant l'histogénèse qui conduit à l'imago.

Chez *Lucilia sericata*, l'œuf contient de même, quelques heures avant l'éclosion, une faible quantité de produits actifs sur l'extension cellulaire des plantules d'avoine. Ceux-ci augmentent considérablement pendant la période de nutrition du jeune ver qui est alors très riche, puis disparaissent au moment de la pupation. Enfin, les substances actives retrouvées par la suite dans la nymphe histolysée diminuent au cours de l'histogénèse et ne sont plus apparentes chez l'Insecte parfait.

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les recherches que nous avons entreprises pour déceler dans le règne animal des substances comparables aux auxines nous ont conduit à un certain nombre de résultats qu'il importe maintenant d'examiner et de discuter avec soin.

I. — Examen critique de la méthode employée.

a) *Sensibilité absolue et relative du test ;
sa valeur par rapport aux tests coléoptiles d'avoine plus récents.*

La technique de F. W. WENT (1928), légèrement modifiée et conduite dans des conditions expérimentales que nous avons précisées, nous a permis de constater que des coléoptiles d'une longueur de 4 centimètres et demi environ réagissent faiblement, mais d'une façon constante, sous l'influence de l'hormone de croissance contenue dans un bloc de gélose de $2 \times 1,5 \times 0,062$ mm. que l'on a immergé pendant une heure dans un mélange de 1 centimètre cube d'urine humaine et de 50 centimètres cubes d'eau distillée. Que, d'autre part, les courbures caractéristiques de l'auxine n'apparaissent plus sous l'action d'un cube d'agar imbibé d'urine plus étendue. Aussi peut-on admettre que la dose d'hormone qui, dans la première solution urinaire, atteint les environs du seuil d'excitation en déclenchant la riposte des coléoptiles donne de façon assez précise la sensibilité absolue de notre technique. La méthode utilisée ne décelera donc que des quantités de substances actives dont la valeur est égale ou supérieure à la quantité de matière auxinique présente dans l'urine diluée cinquante fois ; tous les organes et tissus qui sont susceptibles d'en contenir à plus

faible dose sont considérés comme pratiquement dépourvus de substances de croissance.

On est en droit de se demander si l'usage d'un test plus sensible n'apporterait pas des changements plus ou moins importants dans les résultats que nous avons exposés. De travaux récents ont montré en effet que la sensibilité des plantules d'avoine pouvait être accrue : VAN DER WEIJ (1931) a indiqué que deux décapitations pratiquées à 90 minutes d'intervalle avaient à cet égard une influence heureuse. Plus tard, HEYN (1935) a recommandé la pratique de trois décapitations espacées de deux heures et ne faisant disparaître au total que 5 millimètres de l'extrémité du coléoptile ; la sensibilité des plantules de réaction traitées serait de deux à trois fois plus grande que dans le test normal. SKOOG (1937), enfin, a apporté des modifications plus profondes à la technique fondamentale. Dès le deuxième jour de la germination, lorsque le coléoptile atteint une longueur voisine de 1 centimètre et demi, il est isolé de la graine ; la source d'auxine est ainsi éliminée. L'extrémité de la jeune plante, préparée comme à l'ordinaire, reçoit sur un côté le bloc de gélose chargé d'hormone. L'expérience montre que la plantule devient sensible à des concentrations dix fois plus faibles que dans le test normal où la graine reste en place. Et c'est grâce à ce perfectionnement du procédé initial que SKOOG a pu déceler la présence d'auxine dans la feuille primaire et dans les zones les plus basses du coléoptile qui, jusqu'ici, avaient été considérées comme dépourvues de substances actives.

Il faut donc s'attendre à ce que l'application au règne animal de ces techniques plus sensibles, qui ont déjà fait leurs preuves en physiologie végétale, permette de révéler des traces d'auxine là où notre méthode s'est montrée inopérante. Le nombre des organes et tissus que nous considérons comme inactifs serait réduit de la sorte. Mais il importe de souligner qu'une méthode plus précise ne peut entraîner un changement profond de la sensibilité relative du test ni, par là même, détruire les conclusions essentielles auxquelles nous avons abouti.

Si le coléoptile devient sensible à des doses infimes de substances actives que l'œuf émettrait aux premiers stades de son développement, et que nous n'avons pu détecter, il est évident qu'il réagira d'une façon plus intense aux phases plus avancées de l'ontogénèse où l'hormone a été reconnue. Les organes de l'adulte se révéleront

les uns et les autres plus actifs si bien que leur répartition en trois catégories — telle que nous l'avons établie — aura des chances de n'être guère bouleversée.

L'usage d'une technique plus sensible ne peut donc pas détruire dans leur aspect fondamental l'ensemble des faits que nous avons mis en évidence. Il est vraisemblable qu'on observera un accroissement brusque de la quantité d'auxine produite aux moments où nous commençons seulement à la déceler. En d'autres termes, on notera sans doute, à ces époques, un crochet brusque dans la courbe de production de l'hormone.

b) *Etude comparée des techniques utilisées pour l'extraction des substances auxiniques contenues dans les tissus animaux. Auxines libres et auxines combinées.*

Nous avons déjà indiqué (II^e Partie, A) que les auxines avaient été reconnues à peu près en même temps, d'abord par KÖGL, puis par LAIBACH et MASCHMANN, dans l'organisme de divers animaux adultes. Tous ont employé pour le dosage quantitatif de l'hormone le test du coléoptile d'avoine de F. W. WENT. Mais ils ont eu recours pour l'obtenir à des procédés d'extraction chimique très différents de la technique de diffusion des tissus broyés que nous avons suivie et qui a été décrite dans les pages précédentes.

Le rapprochement des diverses méthodes mises en œuvre, et des résultats qu'elles ont permis d'atteindre, montre, nous allons le voir, que les techniques d'extraction jouent un rôle primordial pour la détection de l'hormone et qu'elles peuvent expliquer certaines discordances dans les faits qui ont été observés.

KÖGL et ses collaborateurs (1933) ont utilisé divers traitements chimiques. Dans l'un d'eux, — qui rappelle la technique d'extraction de l'auxine à l'état pur et cristallisé à partir de l'urine —, l'extrait éthéré de tissu est fractionné par une solution de bicarbonate de soude. L'étude de la fraction acide ainsi obtenue permet de constater que la plupart des tissus de la chienne renferment de l'auxine, mais en quantité très variable : la teneur du foie et de l'estomac est voisine de 96 A. E./gr., alors que celle du rectum atteint 4.500 A. E./gr., l'urine, qui est de tous les éléments le plus riche, contient 18.000 A. E./gr.

Les autres traitements sont des essais de saponification réalisés

à l'aide d'acides ou de lipases végétales. Dans le premier cas, les tissus sont traités à chaud pendant une heure et demie par une solution d'acide chlorhydrique à 5 o/o. Dans le second, ils sont soumis à l'action de la lipase fraîche de ricin pendant deux jours, à la température de 25° C. Les résultats sont différents. Tandis que l'hydrolyse acide donne 480 A. E./gr. pour le cerveau, et 5.160 A. E./gr. pour la graisse du ventre, l'hydrolyse pratiquée avec la lipase de ricin libre, pour les mêmes organes, 1.200 et 2.700 A. E./gr. Les deux procédés sont en outre inopérants pour le foie et le muscle, alors que l'extraction par le bicarbonate de soude fait apparaître de faibles quantités de produits actifs dans le foie. Des essais conduits de la même façon sur le cerveau et le cervelet de bœuf sont également négatifs. De plus KÖGL a constaté que l'on pouvait, par simple action d'une solution de soude, révéler dans la bile de bœuf une teneur élevée de 8.000 A. E./gr., alors qu'une saponification d'une heure, à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 5 o/o, reste sans effet appréciable.

Cet examen rapide des techniques employées par KÖGL et ses collaborateurs indique que, suivant le traitement chimique d'extraction adopté, il se produit des fluctuations importantes dans la teneur en auxine libérée des organes de la chienne et du bœuf.

La même année 1933, LAIBACH et MASCHMANN faisaient des expériences d'un ordre semblable sur la souris, le cobaye et la poule. Leur technique compliquée utilise la solubilité de l'auxine dans divers solvants : alcool à 95 o/o, éther, et un fractionnement par une liqueur de bicarbonate de soude. La quantité de substance active détectée varie d'un organe à l'autre, et l'on peut ranger les différentes parties de l'organisme dans l'ordre suivant, d'après leur teneur décroissante : foie, rein, cœur, muscle de la cuisse, sang et ovaire.

Cette classification ne correspond donc pas dans son ensemble aux chiffres donnés par KÖGL, qui n'a pas pu prouver l'existence de l'hormone dans le cœur ni dans les muscles de la chienne, et qui n'a révélé que de petites quantités d'auxine dans le foie.

Elle s'oppose, d'autre part, à certains faits que nous-mêmes avons observés. Notre méthode de recherches, qui écarte tout traitement chimique et utilise la captation dans un gel d'agar des produits actifs que peut libérer une purée de tissus broyés, ne nous a jamais permis de mettre en évidence, même en quantité infime, des

substances de ce type ; pas plus dans les tissus hépatique et musculaire que dans le cœur et le sang. Par contre, le tissu rénal et la paroi du rectum se sont montrés en toutes circonstances très riches en facteurs d'élongation cellulaire.

Aussi est-on à prime abord profondément surpris en présence de faits aussi contradictoires, et presque dans l'impossibilité d'apporter une explication logique sur de telles divergences. On ne peut invoquer en effet, pour justifier la variabilité de ces résultats, le choix spécifique des animaux qui ont servi aux différents expérimentateurs et à nous-même. Une partie de nos recherches a porté, pour l'animal adulte, sur les tissus du cobaye et sur quelques organes de la poule, — qui ont été étudiés également par LAIBACH et MASCHMANN —, et nos résultats, comme nous l'avons dit plus haut, sont souvent opposés aux leurs. Il ne saurait être retenu non plus que les quantités de substances actives puissent varier autant d'un organisme à l'autre, pour des individus normaux.

Il paraît vraisemblable, au contraire, de supposer que l'auxine existe dans l'organisme animal sous différents états : à l'état libre, c'est-à-dire sous une forme qui est directement active sur le test coléoptile, — c'est celle sous laquelle nous l'avons détectée au cours de nos recherches personnelles —, et à l'état combiné, où elle ferait partie de molécules plus complexes. Dans ce dernier cas, l'effet physiologique ne peut être saisi qu'après une extraction chimique appropriée. Le traitement choisi serait, d'ailleurs, susceptible de jouer un rôle de première importance, puisque l'on constate, notamment dans les expériences de KÖGL, que le même organe libère des quantités plus ou moins grandes d'hormone suivant le procédé de saponification auquel il est soumis. Cette manière de voir est fortement appuyée par les résultats obtenus au cours des recherches que nous avons entreprises sur l'œuf de poule en voie de segmentation. Alors que l'on ne peut détecter par diffusion que des quantités infimes d'hormone, et à un stade avancé de l'ontogénèse (13^e jour environ), l'hydrolyse acide pratiquée d'après la technique de THIMANN, appropriée à cet usage par ROBINSON et WOODSIDE, montre la présence d'une quantité appréciable de substance active chez des embryons âgés seulement de cinq et six jours. D'ailleurs, nous l'avons déjà mentionné, les auteurs américains signalent l'auxine avant la mise en incubation de l'œuf fécondé, c'est-à-dire immédiatement après le début de segmenta-

tion qu'il subit alors qu'il chemine dans les voies génitales de la poule.

Nos expériences d'autolyse aseptique apportent d'autre part, des arguments en faveur de l'hypothèse du déplacement possible de l'hormone par intervention chimique. En effet, des organes qui se sont montrés incapables de provoquer la courbure des plantes de réaction, après de multiples tentatives effectuées selon notre procédé habituel de détection de l'hormone, peuvent libérer des quantités considérables de facteurs de croissance au cours des processus chimiques qui sont déclenchés pendant leur autodigestion.

Or les diverses opérations chimiques qui amènent la destruction *in vitro* de la matière vivante, prélevée aseptiquement et conservée à une certaine température à l'abri des germes extérieurs, sont dues à l'activité des diastases endocellulaires. Et parmi ces ferments autochtones des tissus, artisans de leur désintégration, on trouve d'abord les diastases protéolytiques. Celles-ci, les plus anciennement connues, ne proviennent pas de la résorption des diastases digestives et sont spécifiques à chaque organe. Bien qu'elles ne soient pas tout à fait identiques à celles que l'on trouve dans la cavité gastro-intestinale des animaux, elles peuvent, extraites des tissus, exercer sur les polypeptides une action énergique décelable *in vitro*. Grâce à elles, les albumines sont transformées en albumoses, peptones et acides aminés. Mais, dans les tissus, ces aminoacides sont détruits à leur tour par des diastases spéciales. On trouve, en effet, dans la muqueuse intestinale comme dans le foie, une arginase qui dédouble l'arginine, base hexonique, en ornithine et en urée. Il y a encore toute une série de diastases (nucléases, adénases, etc.) qui assurent la dégradation des nucléo-protéides.

Mais si les ferments protéolytiques jouent un rôle prépondérant dans la destruction des tissus en voie d'autolyse, il existe, à côté d'eux, les lipases, découvertes dans le sang et le foie par HANRIOT (1896); celles-ci interviennent pour décomposer les graisses neutres et les lécithines. Enfin, il y aurait un ferment glycolytique.

Ainsi, grâce à ces ferments intracellulaires, les tissus soumis à l'autolyse subissent une digestion extrêmement puissante, qui, lorsqu'elle est suffisamment prolongée, aboutit à une liquéfaction du fragment d'organe ne laissant intacts que le tissu conjonctif et les fibres élastiques. Les produits obtenus à ce stade ultime ressemblent à ceux qui résultent de la digestion peptique et trypsique;

ils sont représentés par des albumoses, des bases hexoniques (lysine, arginine, histidine), des acides aminés (leucine, tyrosine, glycocolle, acides glutamique et aspartique, tryptophane, etc.). A côté des produits de transformation des albuminoïdes, se trouvent divers acides qui proviennent de la transformation du glycogène en acides lactique, acétique, butyrique.

L'autolyse est très complexe puisqu'elle embrasse une protéolyse, une lipolyse et une glucidolyse des tissus. Et l'on peut conclure de ce qui précède que la plupart des constituants organiques de la matière vivante, sinon tous, subissent de profondes dislocations.

Il y a donc lieu de penser que, dans les expériences d'autodigestion que nous avons réalisées sur un organe tel que le foie, — où l'on rencontre les diastases les plus variées —, les facteurs auxiniques apparus, qui sont des substances simples, naissent de la dislocation de molécules plus complexes. Ils se formeraient, par exemple, comme prennent naissance l'acide lactique aux dépens du glycose, les acides butyrique ou succinique à partir du dédoublement des graisses ou même du clivage de certaines matières protéiques.

Les faits observés dans l'autodigestion de certains organes du Discoglosse et du cobaye nous conduisent naturellement aux expériences d'alimentation contrôlée, réalisées par KÖGL et ses collaborateurs, lesquelles montrent qu'un « sommet d'auxine » se manifeste dans l'urine environ deux heures après l'ingestion de différentes catégories d'aliments : huiles et graisses. Or il importe de souligner que beaucoup de substances qui déterminent dans l'organisme l'apparition du sommet d'auxine ne contiennent pas d'hormone à l'état libre, mais que celle-ci peut se révéler en quantité très importante après saponification. Ainsi, dans la cavité gastro-intestinale, les sucs digestifs causeraient la libération des facteurs de croissance comme le fait, *in vitro*, la lipase de ricin.

Si l'on compare les résultats obtenus au cours de l'autolyse aseptique des tissus à ceux qui se révèlent dans la digestion naturelle et la saponification des huiles, et si l'on considère l'analogie des processus diastasiques qui interviennent dans les trois phénomènes, il apparaît avec assez de netteté que dans nos expériences d'autodigestion la formation de substances auxiniques serait due à l'intervention des diastases. A la suite du travail de celles-ci, les

facteurs de croissance passeraient d'une forme combinée non agissante à une forme libre et active. En d'autres termes, ils seraient déplacés par voie chimique, comme ils le sont dans les différents procédés d'extraction que nous avons signalés précédemment.

c) *Nature des renseignements chimiques fournis ;
les substances connues de fonction auxinique.*

Les substances actives que nous avons décelées dans l'œuf en voie de développement, dans les tissus de divers animaux adultes et dans les larves d'insectes, possèdent la propriété physiologique caractéristique des auxines végétales qui est de provoquer l'élongation cellulaire des coléoptiles d'avoine décapités.

L'examen des courbures obtenues montre que celles-ci, au moins lorsque leur amplitude est assez grande, présentent toutes la même allure, qu'elles ne sont pas localisées à la partie supérieure des jeunes plantules, mais qu'elles s'étendent vers les zones les plus basses comme le font les véritables auxines et l'hétéroauxine, qui sont des substances très diffusibles. De plus, le temps qui s'écoule entre l'apposition des blocs de gélose contenant ces différents facteurs auxiniques et le moment où s'amorce l'incurvation des souches décapitées est constant. On voit donc que les réponses des plantes, sous l'action des matières émises par les tissus broyés, rappellent fidèlement celles des tiges témoins de nos expériences qui se courbent sous l'influence d'un cube de gélose imprégné d'urine humaine laquelle, on le sait, doit son activité à l'auxine *a* et à l'hétéroauxine qu'elle contient. Les substances émises par les tissus et œufs broyés de divers animaux paraissent donc avoir un mode d'action identique, en tant qu'excitant fonctionnel de l'élongation cellulaire, et il semble que les différences d'intensité qui se révèlent dans les ripostes des plantes d'expériences sont d'ordre quantitatif plutôt que d'ordre qualitatif. Ces faits nous font également admettre que les facteurs de type auxinique rencontrés chez des représentants très éloignés du règne animal ne présentent pas de spécificité zoologique.

Mais à ce stade de nos recherches, nous possédons trop peu d'éléments pour essayer d'identifier ces substances avec quelque certitude, et de les rapporter soit aux auxines *a* et *b*, soit à l'hétéroauxine ou acide β -indolylacétique. Si les processus vitaux, mis en

jeu dans les embryons et les organismes adultes de divers animaux, peuvent conduire à l'élaboration de véritables auxines, ils peuvent aboutir encore à différentes substances, plus ou moins proches chimiquement, mais capables néanmoins d'exercer une action favorable sur l'extension de la cellule végétale. Cette dernière idée s'appuie notamment sur le fait que le nombre de corps chimiques auxquels on reconnaît la propriété spécifique des hormones végétales augmente de jour en jour. Nous avons pu constater (I^{re} Partie, Chapitre II) que les esters de l'acide indol-3-acétique, de même que ses homologues nucléaires, possèdent eux aussi une grande activité sur le test avoine et que le tryptophane, matière inactive comme facteur d'élongation cellulaire, est susceptible de donner, au cours de sa désintégration, divers produits actifs et notamment de l'hétéroauxine. Enfin, il a été vu que de nombreuses substances, plus éloignées dans leur structure chimique que les précédentes, peuvent se comporter à des titres divers comme facteurs de croissance.

Mais si l'insuffisance dans laquelle nous nous trouvons d'apporter des renseignements précis sur l'origine et la nature chimiques réelles des facteurs de croissance mis en évidence par notre méthode ne permet de les assimiler avec certitude ni aux véritables auxines de KÖGL ni à l'hétéroauxine, certains essais, que nous considérons comme préliminaires, tendent à montrer qu'il s'agit cependant de substances très voisines. En effet, les hormones du groupe auxine : auxines *a* et *b* et hétéroauxine, possèdent en commun de nombreuses propriétés, mais elles sont caractérisées avant tout par leur activité physiologique sur le test avoine et leur solubilité dans divers solvants : éther, chloroforme et alcool éthylique. Or, les facteurs actifs d'origine animale que nous avons décelés sont solubles eux aussi dans ces liquides. De plus, leur facile diffusion dans un gel d'agar à 3 o/o indique leur solubilité dans l'eau. Tous ces caractères, joints à la réaction physiologique du test qui se manifeste en moins de deux heures, sont en faveur de l'hypothèse — vraisemblable — selon laquelle l'activité des produits détectés serait due pour une grande part à la présence d'auxine *a* et d'hétéroauxine. Celles-ci, nous le rappelons, ont été reconnues dans le règne animal où l'auxine *b* n'a jamais paru.

D'autre part, il est intéressant de constater qu'il suffit de soumettre à une hydrolyse acide faible les produits de broyage d'em-

bryons de poulet âgés de cinq et six jours, ou des blastules et gastrules de *Discoglossa* — stades de l'évolution qui sont dépourvus d'auxines libres — pour que l'hormone active puisse être révélée.

Dans cette opération, l'activité chimique mise en jeu est minime. Aussi implique-t-elle l'idée qu'il s'est produit une désintégration de molécules peu stables et que les acides aminés pourraient constituer la substance fondamentale à partir de laquelle l'hormone est libérée. Un certain lien de parenté s'établirait entre la substance active décelée et l'acide indol-3-acétique.

Des recherches plus précises nous permettront peut-être de vérifier ce dernier point en soumettant les extraits aqueux de divers tissus et embryons de larves à l'action de solutions acide et alcaline chaudes. Il est connu que l'auxine *a*, stable dans les solutions acides, est inactivée par les liqueurs alcalines, tandis que l'hétéroauxine, détruite par les premières, conserve intégralement son activité dans les secondes. Les traitements alcalin et acide sont, l'un et l'autre, néfastes à l'auxine *b*.

Dans l'état actuel des choses, nous pouvons donc admettre, tout au plus, que les substances actives révélées par notre technique représentent un complexe de facteurs de croissance dans lequel pourraient entrer les véritables auxines, l'hétéroauxine et les dérivés, très nombreux et plus ou moins actifs, de cette dernière. Le terme d'auxine, créé par KÖGL, que nous employons couramment dans notre exposé, désigne donc ce complexe de facteurs.

d) *Signification générale des résultats qu'elle nous a fournis.*

L'ensemble des faits expérimentaux que nous avons exposés montre que des substances du type auxinique existent dans le règne animal et qu'on peut les révéler en plus ou moins grande quantité dans des organismes très variés. Présentes dans certains tissus, bien caractéristiques par leurs fonctions, chez des animaux adultes qui ont un genre de vie tout à fait dissemblable, elles sont aussi élaborées d'une façon constante, bien qu'à un stade plus ou moins avancé de l'ontogénèse, et à doses très variables, par des embryons d'espèces très diverses. Il reste à savoir si ces substances détectées et recueillies dans des conditions expérimentales rigoureusement identiques, mais provenant d'animaux si divers, appartiennent à un même type hormonal de structure chimique bien

définie. En effet, chez l'adulte, l'organisme a atteint le maximum de complexité ; il est morcelé en territoires cellulaires qui sont spécialisés dans une fonction nettement déterminée. Les phénomènes physico-chimiques qui s'accomplissent dans chaque organe, et grâce auxquels ce dernier participe à la vie générale de l'individu, ne sont pas identiques. Il en résulte qu'un tissu possède des propriétés physiologiques spécifiques et a un métabolisme particulier. Il n'y a donc aucune raison de croire, par exemple, que les substances actives décelées dans la peau, les glandes génitales mâles et femelles, organes de l'adulte qui se trouvent toujours en état de prolifération rapide, soient absolument identiques à celles que l'on observe dans le tube digestif et qui ont en grande partie une origine alimentaire indiscutable. On peut signaler à cet égard que chez l'homme on trouve l'auxine *a* et l'hétéroauxine dans l'urine, alors qu'il a été démontré que l'hormone active de la salive, considérée d'abord comme une véritable auxine, est de l'acide indol-3-acétique.

Il n'est pas évident non plus que les substances auxiniques synthétisées par les divers embryons que nous avons examinés soient les mêmes. Comme nous le verrons plus loin en détail, le développement des œufs d'espèces différentes ne s'effectue pas selon un mode unique. Si les cellules embryonnaires sont créées dans l'œuf de *Discoglosse* comme dans celui de la poule ou des insectes à partir de réserves ovulaires très voisines dans leur constitution, les processus de synthèse mis en action sont par contre très différents. Chaque type embryonnaire a une source énergétique propre, et un métabolisme spécial qui le différencie du voisin. Il s'ensuit que les matériaux nutritifs des divers œufs ne sont pas utilisés suivant un rythme uniforme. Tandis que certaines réserves ovulaires seront complètement transformées chez les uns, elles ne seront que peu modifiées chez les autres. Les processus chimiques déclenchés — analogues à ceux qui, chez l'adulte, assurent au cours de la digestion la fragmentation des matières alimentaires en éléments plus simples et assimilables — ne conduiront donc pas dans tous les œufs à des substances identiques. Certaines réserves ne subiront, dans telle espèce, qu'une activité digestive préliminaire qui les transforme en produits de désintégration grossiers comme le ferait une digestion peptique, alors que, chez telle autre, elles sont

complètement morcelées par une action plus énergique du type trypsique.

On peut donc supposer que les valeurs auxiniques si nettement opposées que présentent des purées embryonnaires de poulet et de *Discoglosse* découlent de variations chimiques de cet ordre. Chez le batracien, il y aurait une démolition très poussée de certaines réserves ovulaires qui donneraient naissance à de nombreuses substances très simples dont l'une, et peut-être plusieurs d'entre elles, possèderaient à un haut degré la fonction physiologique des auxines végétales. Chez l'oiseau au contraire, les mêmes réserves ne seraient qu'imparfaitement transformées et conduiraient à des substances moins simples et très faiblement actives. Et l'on peut se demander, au sujet des substances actives émises par l'embryon de poulet, — les courbures induites étant extrêmement réduites et localisées vers la pointe de la souche —, si les substances formées sont vraiment actives par elles-mêmes ou si elles n'acquièrent pas leur minime activité à la suite d'une transformation qu'elles subiraient dans les tissus des coléoptiles. Cette hypothèse est assez vraisemblable car des exemples de ce genre d'action sont bien connus. On sait en effet que certains esters de l'hétéroauxine ne sont actifs que lorsqu'ils ont subi une saponification partielle dans la plante de réaction. De plus il suffit, comme nous l'avons vu, de soumettre à une hydrolyse acide très faible des embryons à un âge où ils se comportent négativement dans notre méthode de diffusion pour que de petites quantités d'auxines apparaissent. De même, l'apparition plus ou moins précoce des facteurs de croissance dans les embryons pourrait s'interpréter par une attaque échelonnée des diverses réserves de l'œuf. Celles qui engendreraient l'hormone seraient disloquées dès les débuts de l'embryogénèse chez la grenouille peinte, et à un stade très avancé de l'ontogénèse chez le poulet et le Bombyx du mûrier.

Il est donc possible que les facteurs auxiniques que nous avons mis en évidence dans différents œufs en voie de développement, et qui sont libérés par le travail chimique de l'embryogénèse, et ceux qui sont présents chez l'adulte ne soient pas les mêmes, mais leur action physiologique, au moins dans la majorité des cas, ne permet pas de les différencier.

Conclusion.

Il ressort de cette étude critique que les substances de fonction auxinique découvertes par notre méthode chez divers individus appartenant à des groupes zoologiques très différents sont mal connues. Nous ne pouvons en effet apporter des notions sûres quant au mécanisme de leur formation, ni préciser les éléments à partir desquels elles sont créées. Nous ignorons aussi leur structure chimique et il n'est pas possible de décider si l'activité auxinique des différents tissus et des œufs est due à une seule et même substance ou à plusieurs matières douées de propriétés physiologiques à peu près semblables.

Mais, si la plupart des résultats que nous avons exposés ne peuvent être que provisoires, certains d'entre eux cependant sont assez suggestifs. Ils montrent que les produits hormonaux apparaissent dans l'œuf seulement à un moment précis de l'embryogénèse et que, chez l'adulte, ils se localisent surtout dans des organes remarquables par leur activité physiologique. Aussi nos recherches nous auront au moins permis d'explorer quelques variations des propriétés chimiques de l'œuf en voie de développement et des différentes parties de l'organisme adulte.

II. — Les substances de croissance dans le règne animal.

A. — *Chez les formes embryonnaires.*

a) *Gamètes et œuf fécondé.*

Les gamètes et l'œuf fécondé du *Discoglosse* sont dépourvus de substances auxiniques et, cependant, la même méthode permet d'observer que l'ovaire et le testicule en renferment des traces. Cette constatation suggère immédiatement l'idée que la glande femelle peut les incorporer en les combinant aux réserves ovulaires et que, au cours de cette intégration, elles seraient rendues inactives par suite de leur passage dans les molécules plus complexes. Cette hypothèse permettrait d'expliquer la provenance d'une partie au moins des facteurs auxiniques que l'on détecte en abondance pendant

l'embryogénèse. Quoi qu'il en soit, leur apparition subite, avant toute nutrition externe, implique nécessairement qu'ils doivent tirer leur origine des matériaux inactifs de l'œuf et qu'ils sont probablement la conséquence de la digestion de ces derniers. La libération artificielle de facteurs de croissance réalisée *in vitro* par la dégradation autolytique de divers organes du cobaye et du Discoglosse adultes, qui, à l'état frais ne contiennent pas d'auxine, appuie d'une façon sérieuse le point de vue précédent. En effet, l'absence d'agents microbiens dans les autolysats permet d'attribuer entièrement la désintégration des tissus et organes aux activités digestives des diastases endocellulaires. Les substances de réserves des tissus, inactives au départ, sont réduites, au fur et à mesure que l'autolyse progresse, en éléments chimiques de plus en plus simples et qui se révèlent doués de la fonction auxinique. Dans l'œuf, le mécanisme de la formation des substances actives pourrait être le même. L'embryon, utilisant des processus chimiques plus ou moins comparables, fragmenterait par digestion les réserves ovulaires et, par là même, les molécules complexes où sont combinées d'après notre hypothèse, les auxines fournies par l'ovaire, qui peuvent alors manifester leur action physiologique.

Ce sont des phénomènes du même ordre qui permettent de comprendre l'apparition des substances hormonales dans les nymphes de *Bombyx mori* et de *Lucilia sericata*. La chenille et le ver qui arrivent à l'époque de la mue sont dépourvus de telles substances, alors que, dans les stades antérieurs de leur vie larvaire, ils en contiennent beaucoup. Or, la larve de l'insecte, spécialement adaptée aux fonctions de nutrition, accumule dans ses tissus la majeure partie des aliments qui deviennent des réserves nutritives. Puis, à un moment donné, elle se convertit en imago, c'est-à-dire en un organisme essentiellement reproducteur. Et c'est aux dépens des matières nutritives emmagasinées dans la jeune chrysalide, et où, peut-être, se trouve retenue sous une forme inactive une partie de l'auxine élaborée pendant la phase larvaire, que se crée le nouveau plan d'organisation de l'insecte parfait, qui se substitue au plan d'organisation de la larve. Ce processus rappelle donc, d'une manière saisissante, l'ébauche de l'embryon aux dépens de réserves de l'œuf. En effet, le changement profond de la forme de l'insecte est caractérisé par des processus très complexes, les uns de destruction, les autres constructifs. Au cours des premiers — ou histo-

lyse —, il y a un remaniement complet des principes nutritifs qui ont été acquis pendant la vie larvaire et une désorganisation de la plupart des tissus. Tout cela aboutit à une bouillie comparable au vitellus en digestion de l'œuf, laquelle est utilisée pour les processus de construction. Ainsi, pendant la nymphose, il se produit tout d'abord une décomposition des éléments constitutifs de la larve, qui rappelle la désintégration autolytique *in vitro* des organes du cobaye et du Discoglosse, et la démolition digestive des réserves de l'œuf par l'embryon. Et l'expérience montre que c'est à ce stade ultime de dégradation des réserves de la larve que les facteurs de croissance se trouvent en plus grande abondance.

b) *Au cours du développement, sans nutrition externe.*

Il découle de nos recherches que l'embryon peut fabriquer des substances de croissance à partir des principes nutritifs contenus dans l'œuf. Mais on observe que l'apparition d'hormone se fait, pour les différents œufs à réserves examinés, à un stade précis du développement qui est variable selon chaque espèce. L'hormone étant élaborée à la suite de la transformation des réserves ovulaires, il semble que son apparition brusque, notamment chez le Discoglosse où le phénomène est le plus intensément marqué, doit correspondre à une période d'activité digestive plus grande. L'étude du développement de l'œuf paraît fort suggestive à cet égard.

L'embryon de tous les animaux provient d'une cellule géante, ou œuf, qui possède en puissance toutes les potentialités de l'espèce à laquelle elle appartient. Aussi contient-elle toutes les substances nécessaires à la vie. Les matériaux variés qui la composent y sont répartis, d'après leur constitution, d'une manière déterminée. Il en résulte une structure hétérogène relativement simple qui est celle que peut déceler l'étude morphologique et chimique de l'œuf. Dès les premières minutes de la fécondation, l'œuf, que l'on peut considérer comme un système chimique fermé à tout apport d'aliments, — mais non isolé, puisqu'il reste perméable aux gaz et à l'eau —, se crée une structure spéciale. L'hétérogénéité augmente dès les premières mitoses et, en particulier, avec la formation ultérieure des nombreuses cellules de segmentation. Cette nouvelle structure, qui va se compliquant, modifie de plus en plus les conditions physico-chimiques du milieu immédiat. Elle régularise les échanges, et

son influence se manifeste indubitablement sur l'activité cellulaire. Ainsi, l'œuf, qui était, au stade initial de la fécondation, une cellule plus ou moins inerte, est devenue un système chimique en voie de transformation. Sa physiologie se révèle alors plus compliquée du fait que la vie cellulaire se montre plus exigeante. C'est grâce à cet ensemble de processus que s'effectue, aux dépens de substances plus uniformes et plus simples, la genèse de l'embryon et que se poursuit, dans leur constitution morphologique et chimique, la formation de ses organes différenciés.

On a pu préciser d'importantes variations métaboliques au cours du développement de l'œuf de grenouille. Il résulte d'abord des travaux de PARNAS et KRAISINSKA (1921), exposés par FAURÉ-FRÉMIET, qu'il y a lieu de distinguer deux phases dans l'embryogénèse de *Rana temporaria*. Dans la première, les échanges effectués entre l'œuf et le milieu extérieur seraient uniquement gazeux ; les oxydations, indépendantes de la tension partielle de l'oxygène, se révèlent particulièrement faibles. Pendant cette période, d'intensité métabolique médiocre, qui englobe les premiers stades de la segmentation : blastula et gastrula, il n'y a pas d'accroissement de la masse cytoplasmique mais seulement une augmentation du nombre des noyaux. Dans la seconde phase, le jeune organisme effectue au contraire avec le milieu de multiples échanges de matières grâce auxquelles il construit lui-même ses propres constituants chimiques. A ce stade de l'embryogénèse, qui est celui de la neurula, on décèle une augmentation brusque des oxydations. La tension partielle de l'oxygène intervient alors dans l'intensité des échanges respiratoires et l'œuf devient sensible vis-à-vis de certaines substances toxiques qui le laissaient indifférent aux stades antérieurs. Un travail chimique important correspond à cette période et la masse cytoplasmique augmente ; il y a une véritable croissance.

De plus, des faits très intéressants ont été observés récemment (1936), chez *Rana fusca*, par BRACHET et NEEDHAM. Le premier a pu noter une élévation du quotient respiratoire à partir de la gastrulation. Les deux auteurs mettent aussi en évidence, à cet instant précis, l'apparition de phénomènes chimiques complexes qui se manifestent notamment par l'utilisation du glycogène. Celui-ci serait représenté dans l'œuf par le lyoglycogène, forme soluble dans l'eau bouillante et l'acide trichloracétique, et le desmoglycogène, forme combinée aux protéines qui ne peut être obtenue par cette méthode

extractive. Or au début de la neurulation, le glycogène combiné commence à disparaître et, si les deux formes sont atteintes par la suite, c'est toujours le desmoglycogène qui est le plus utilisé. Ainsi il se produit dans l'œuf de véritables transformations chimiques dont une, bien connue et vraiment typique, est représentée par la libération du glycogène de la forme combinée et par son utilisation de préférence au lyoglycogène.

NEEDHAM a précisé aussi l'ordre dans lequel les divers matériaux de l'œuf sont utilisés et montré que leur emploi correspond à la synthèse de substances de même nature dans l'embryon. Pour cet auteur, les glucides précèdent les protides et ceux-ci les lipides. Il est intéressant de constater que cet ordre paraît être déterminé par la difficulté que présentent ces matières à la simplification chimique préalable permettant leur utilisation. Donc, pendant l'embryogénèse, les substances de réserves de l'œuf sont le siège de perpétuelles et profondes mutations grâce auxquelles elles se transforment progressivement en cellules embryonnaires puis en jeune organisme.

Si le développement du *Discoglosse*, batracien qui nous a servi de sujet d'études, est beaucoup plus rapide que celui de la grenouille, aucune raison sérieuse ne peut être invoquée pour nier, dans l'embryogénèse de cet animal, l'existence de phénomènes physico-chimiques du même ordre. Il est évident que, pour l'un et l'autre de ces deux amphibiens, l'assimilation morphologique des matières de réserves par l'embryon se fait uniquement au moyen des mêmes processus chimiques, comme elle se réalise plus tard chez l'adulte, où à partir de substances simplifiées par la digestion, l'organisme crée de la matière vivante.

En vertu de ce rapprochement il y aurait donc au cours du développement de l'œuf de *Discoglosse* une première phase, de faible activité, sans croissance caractérisée et qui correspondrait à la période négative de notre expérimentation. Puis une seconde phase où l'activité métabolique s'accroîtrait brusquement et dont le travail chimique mis en œuvre aboutirait, aux dépens des matériaux préexistants de structure complexe, à l'édification de substances plus simples et plus nombreuses. Les facteurs de croissance, que nous avons décelés par la méthode du coléoptile et qui apparaissent spontanément, feraient partie des éléments qui résultent de ce métabolisme chimique intense et subit. Leur apparition régulière à un stade précis, vérifiée sur de nombreuses pontes, semble indiquer

qu'à un moment déterminé du développement de l'œuf, il y a attaque des substances formatrices d'auxines lesquelles, aux stades précédents de l'ontogénèse, sont épargnées par le catabolisme cellulaire.

La digestion sélective et échelonnée des matériaux de l'œuf pourrait expliquer en outre les différences quantitatives et chronologiques, que l'on observe dans les embryons d'espèces diverses. Les recherches nombreuses entreprises jusqu'ici n'ont pas permis en effet d'établir par les méthodes chimiques une distinction marquante dans la structure des vitellines des oiseaux, ni même entre celles d'individus très éloignés dans l'échelle zoologique, tels que l'oiseau et l'insecte. Aussi, puisque la composition chimique fondamentale des œufs est la même pour tous les animaux, peut-on présumer que seul le mode de développement est en cause. Tandis que l'œuf de Discoglosse, comme celui de tout être aquatique, peut absorber de l'eau au cours de son évolution, les œufs de poule, du ver à soie et de la mouche, qui accomplissent tout leur développement dans le milieu aérien, sont physiologiquement beaucoup plus isolés. Ces derniers œufs, dits cléidoïques, ont un métabolisme embryonnaire nettement différent de celui des œufs aquatiques doués d'un catabolisme essentiellement protéique, qui, d'après NEEDHAM, représente chez le batracien la source énergétique principale de l'ontogénèse. Les œufs terrestres, au contraire, n'utilisent que très peu de protéines mais possèdent par contre un catabolisme important des graisses. Ces dernières conclusions, établies également par le physiologiste anglais, ont été vérifiées en partie par SLIFER (1930) qui a constaté dans l'œuf de sauterelle une consommation élevée des graisses au cours du développement embryonnaire de cet insecte.

D'après ces observations, on peut admettre que les facteurs de croissance décelés au cours de notre étude dans les divers embryons représentent un ensemble de substances dont la composition varierait suivant le type de développement des œufs. Ainsi il apparaît que c'est aux dépens des substances protéiques qui se formerait chez le Discoglosse la plus grande partie des facteurs actifs mis en évidence. Mais cela n'exclut pas le rôle accessoire que pourraient jouer les graisses dans leur élaboration et, en particulier, dans les œufs terrestres qui les catabolisent énergiquement.

De même, l'apparition des substances actives au cours de l'histo-

lyse nymphale des hexapodes peut être interprétée d'une façon identique. Différentes théories ont été proposées pour expliquer le mécanisme de l'histolyse larvaire. Celle de PÉREZ attribue la liquéfaction des organes à une phagocytose intense. Les leucocytes, pénétrant dans les formations à détruire, provoqueraient tout d'abord une désagrégation mécanique des tissus qui, réduits en petits fragments, seraient phagocytés. BERLÈSE, qui nie cette théorie, admet une autre cause destructrice : parmi les organes de la larve qui sont frappés de mort, se trouve toujours l'intestin moyen ; lorsque les parois musculaires et épithéliales de celui-ci sont détruites, les sucs digestifs, n'étant plus endigués, débordent dans la cavité viscérale, occasionnant la digestion des tissus morts et des dépôts albuminoïdes qui s'étaient accumulés pendant la vie larvaire. Il y aurait ainsi formation d'un véritable autolysat. Quelle que soit la théorie proposée, on voit que les premières manifestations vitales observées pendant la nymphose se traduisent par une digestion intense des tissus morts et des réserves, qui est réalisée, soit par les ferments endocellulaires dans le cas de la phagocytose, soit par les sucs digestifs de la cavité gastro-intestinale dans le second cas.

D'autre part, les études chimiques de Mme COURTOIS-DRILHON (1931) sur la nymphose de *Bombyx mori* mettent particulièrement en évidence dans l'hémolymph de cet insecte des peptones et des ferments protéolytiques du type « pepsine », et montrent en outre que la teneur en acides aminés augmente pendant les processus d'histolyse, alors qu'elle baisse au cours de l'histogénèse, par suite de l'utilisation de ces amino-acides dans l'édification des protides de l'imago. De même, l'activité protéolytique des extraits de chrysalide ne s'exerce que pendant la première période histolytique de la nymphose. Les recherches similaires d'EVANS (1932) sur le métabolisme de *Lucilia sericata* au cours de la nymphose établissent nettement la formation d'azote d'excrétion presque uniquement pendant l'histolyse.

Ainsi les matériaux constructifs des organes larvaires, qui sont détruits au cours de l'histolyse et qui servent à l'édification des organes imaginaires, passent par une phase intermédiaire soluble, où ils sont décomposés jusqu'à l'état d'acides-amino, parmi lesquels pourraient se trouver l'hétéroauxine ou des composés voisins de celle-ci. La présence dans la nymphe de ferments protéolyti-

ques du seul type « pepsine » qui ne pourraient aboutir qu'à une digestion incomplète des molécules, expliquerait la faible activité des chrysalides constatés aussi bien chez le ver à soie que chez la mouche. Et la rareté des facteurs de croissance pendant la réédification des molécules plus complexes composant les tissus de l'insecte parfait correspondrait au fait signalé par COURTOIS-DRILHON : que les extraits de chrysalide ne possèdent plus, à cette seconde période de la nymphose, qu'une activité protéosynthétique.

La variété des tissus attaqués et plus ou moins digérés par les ferments complexes mis en œuvre au cours de l'histolyse larvaire permet de supposer, en outre, la libération de substances diverses, proches parentes, peut-être, des véritables auxines.

On peut donc dégager de l'ensemble des idées exprimées ci-dessus que les substances de fonction auxinique décelées, soit pendant l'embryogénèse de divers œufs, soit au cours de la désintégration histolytique des nymphes d'insectes, sont libérées à la suite de la digestion plus ou moins complète des réserves accumulées dans l'œuf et la chrysalide, et qu'elles ont une origine purement endogène.

Mais il ne paraît pas possible d'écarter certaines causes secondaires qui interviendraient dans la formation des substances auxiniques de l'œuf. On peut supposer ainsi, à titre d'hypothèse, que la quantité d'hormone décelée dans l'œuf du ver à soie, légèrement supérieure à celle de l'œuf de poule, est due, au moins en partie, à la flore microbienne assez variée qu'il contient. Celle-ci, présente déjà dans la diapause, devient plus abondante au cours de l'incubation (MASERA, 1934) et son métabolisme accru pourrait aboutir à la formation d'hétéroauxine. De même, dans l'œuf de Discoglosse, une certaine quantité d'acide indol-3-acétique ne serait-elle pas élaborée, aux dépens du tryptophane libéré au cours du chimisme de l'embryogénèse, par les bactéries qui, on le sait, sont nombreuses dans les enveloppes ovulaires ?

c) *Au cours du développement, après éclosion.*

On constate, à l'éclosion des différentes larves, que les facteurs auxiniques sont encore présents, à doses très variables. Mais tandis que celles des insectes étudiés, d'ailleurs très pauvres, s'alimentent abondamment, la forme post-embryonnaire du Discoglosse possède une période de croissance autotrophique durant laquelle elle fait

exclusivement appel à ses réserves pour assurer sa nutrition. Et pendant toute cette phase, le jeune têtard continue à synthétiser des substances actives, alors qu'il ne puise dans le milieu extérieur que de l'eau. Mais si les échanges nutritifs sont nuls, le jeune batracien subit néanmoins des transformations morphologiques qui se traduisent par une multiplication des cellules et par l'édification progressive des organes. Il est ainsi le siège de mutations chimiques importantes qui se manifestent aux dépens des réserves ovulaires que la segmentation a réparties entre les diverses cellules. Le métabolisme de la jeune larve en période de jeûne volontaire rappelle donc à peu de chose près celui de l'embryon non éclos. Il est plausible d'admettre qu'à cette époque du cycle évolutif, les facteurs de croissance ont, comme avant l'éclosion, une origine endogène, et qu'ils proviennent de la digestion des réserves alimentaires.

Mais les substances actives décelées à ce stade de l'ontogénèse ne présentent plus la distribution uniforme qu'elles ont avant la naissance de la larve. Nous avons vu qu'on assiste, chez le jeune têtard, au fur et à mesure qu'il devient plus âgé, à une répartition inégale de ces substances, qui commence à se révéler dès sa sortie de l'œuf. Cette distribution hétérogène indique des variations plus ou moins profondes du métabolisme embryonnaire. L'embryon est formé, tout d'abord, de cellules ayant un aspect semblable et qui, biologiquement, sont identiques. Mais, dès que cet être relativement simple croît, il se rapproche de l'adulte, ou tout au moins de l'individu jeune, et une spécialisation cellulaire s'amorce, puis se réalise. Il se produit une différenciation en groupes cellulaires distincts, et ceux-ci que l'on appelle les tissus, doivent, outre les fonctions physiologiques communes, assurer des fonctions spéciales propres à chacun d'eux. Les cellules embryonnaires, peu différenciées, ont des processus vitaux particuliers qui leur confèrent en quelque sorte une marque distinctive, celle des tissus très jeunes. Or, ce sont elles qui constituent, exclusivement, l'embryon encore enfermé dans l'œuf; morphologiquement et physiologiquement identiques, elles assurent leur fonctionnement toutes de la même manière, c'est-à-dire, comme nous l'avons vu, aux dépens des réserves ovulaires réparties en elles au cours de la segmentation. Les facteurs de croissance, produits du métabolisme cellulaire, sont alors présents partout. Mais, à un stade plus avancé de l'évolution, certaines cellules sont devenues adultes, d'autres sont sur le point de l'être;

toutes ont acquis, ou vont acquérir de ce fait une physiologie plus spécialisée. Il en résulte que le métabolisme du jeune embryon se modifie suivant diverses directions et devient plus complexe. Et, en même temps que les processus embryonnaires s'estompent et disparaissent de certains territoires cellulaires, les substances hormonales diminuent et disparaissent elles aussi.

Ainsi, chez la très jeune larve éclosée du *Discoglosse*, l'hormone est encore de nature endogène. Cependant ceci n'est vrai que pour une période relativement courte de la vie du têtard, car, si l'on prolonge expérimentalement la durée du jeûne physiologique, on ne tarde pas à voir la quantité de substance auxinique diminuer, puis disparaître, en même temps que s'épuisent les réserves cellulaires. Cette crise hormonale provoquée par la carence alimentaire confirme l'hypothèse que nous avons émise sur l'origine des facteurs de croissance rencontrés chez le têtard qui vient de naître.

Par contre, lorsque la larve est placée dans un milieu favorable qui lui permet un destin normal, elle assure sa croissance en ingérant des particules alimentaires, et on constate bientôt qu'aux produits auxiniques décelés après l'éclosion et de source endogène s'ajoute une nouvelle quantité de matières actives qui provient de la nutrition. Le jeune têtard, nourri de fragments de foie de divers animaux (cheval, cobaye, *Discoglosse* adulte), libère d'une façon constante des facteurs d'élongation cellulaire, bien que les organes utilisés pour son alimentation en soient dépourvus : ceux-ci, on l'a vu, ont toujours été sans action sur nos coléoptiles de test. Les hormones de croissance présentes chez la larve à ce stade résulteraient de la désintégration du tissu hépatique réalisée dans la cavité gastro-intestinale par les ferments digestifs. Ce mode de formation de l'auxine rappelle par conséquent celui qui s'observe *in vitro* au cours de l'autolyse aseptique de fragments de foie du cobaye et de la grenouille.

Le jeune organisme larvaire du *Discoglosse* paraît donc capable de fabriquer des hormones, successivement, aux dépens des réserves provenant de l'œuf, puis aux dépens des aliments qu'il ingère.

Chez les larves d'insectes : *Bombyx mori* et *Lucilia sericata*, qui, dès la sortie de l'œuf, se nourrissent avec avidité, on observe, au bout de quelques heures que la richesse en auxine s'est manifestement accrue. L'hormone décelée proviendrait donc de l'alimentation, végétale pour le ver à soie, carnée pour l'asticot. Cette manière

de voir est formellement vérifiée par les épreuves de test qui permettent de constater un rapport étroit entre la quantité de facteurs de croissance mis en évidence et l'intensité de la nutrition, aussi bien chez l'un que chez l'autre de ces deux insectes. De plus, on a observé qu'aux cours des mues, qui correspondent à des périodes de jeûne, la chenille du ver à soie ne produit plus que des quantités infimes de substances actives. La larve helminthoïde de la mouche qui cesse de s'alimenter et qui va commencer sa nymphose ne contient pas en général, elle non plus, de substance auxinique.

Mais s'il paraît normal de trouver dans les tissus et les excréments de la larve de *Bombyx mori* des facteurs de croissance qui seraient apportés tout formés dans la nourriture végétale de cet insecte, il est surprenant de constater que l'asticot peut les élaborer à partir de sa nourriture, composée essentiellement de tissus animaux qui en sont dépourvus. Ainsi il devient bien évident que l'auxine détectée chez cette dernière larve résulte en majeure partie de la digestion des aliments. Mais il se peut également qu'une portion de l'hormone apparue chez le ver à soie ait une origine identique et soit le résultat de l'action des sucs digestifs sur l'aliment végétal. On est fort tenté de l'admettre quand on sait que l'intestin de la larve phytophage, et son contenu, sont très riches, alors que la feuille de mûrier, qui a été dans tous nos élevages la nourriture exclusive des chenilles, n'en contient que des traces infimes. C'est chez la larve de la mouche que l'action des ferments digestifs, comme agents créateurs d'auxine, peut être la mieux comprise, grâce aux connaissances précises que l'on possède sur le chimisme de la digestion de ce diptère. Les recherches chimiques et histologiques entreprises par HOBSON (1931) montrent qu'il existe de véritables diastases digestives dans les régions antérieure et postérieure de l'intestin moyen et que c'est dans la fraction postérieure seulement que les aliments sont dissous puis absorbés. Cette démolition des substances alimentaires serait due à l'action des enzymes parmi lesquelles ont été reconnues une tryptase, une peptase et une lipase. Et il est intéressant de noter que les ferments ne sont pas élaborés par des microorganismes mais bien engendrés par les cellules intestinales, puisqu'on les retrouve avec toute leur activité dans les larves stériles. Ils sont capables aussi d'assurer une digestion extra-intestinale. Il y a donc, dans le tube digestif de ce diptère, des ferments qui sont comparables aux diastases endocellulaires

que l'on rencontre dans les tissus animaux. Leur activité se traduit par une transformation totale de la nourriture absorbée par la larve carnassière, qui aboutit à des substances plus simples et assimilables, comme le font *in vitro* les enzymes intracellulaires au cours d'une digestion artificielle. Et c'est ainsi que les facteurs d'élongation cellulaire prendraient naissance dans l'intestin de la larve aux dépens d'aliments qui se sont toujours comportés négativement à cet égard.

Il y a donc lieu d'admettre que la plus grande partie, sinon la totalité, de l'hormone de croissance décelée dans la larve de ces deux insectes a une origine exogène, comme chez la larve assez âgée du Discoglosse, et qu'elle se forme dans la cavité gastro-intestinale à partir d'aliments très divers.

Devant cette origine alimentaire de l'hormone, on est amené à se demander si une fraction de la substance active détectée peu avant l'éclosion du ver à soie ne serait pas imputable aux fonctions digestives de la jeune larve qui, quelque temps avant sa sortie de l'œuf, dévore les parties du vitellus non encore utilisées au cours de l'embryogénèse, ainsi que les membranes annexes.

B. — Chez les adultes.

Par une prospection plus poussée, faite organe par organe, on constate que beaucoup de tissus sont privés de ces substances, tandis que d'autres, qui dans l'organisme sont chargés de fonctions excrétrices, sont richement pourvus. Ainsi, les résultats apportés par la recherche systématique d'auxine dans l'organisme adulte d'animaux très différents montrent une localisation très marquée, déjà entrevue chez la larve éclos du Discoglosse.

Il ne fait aucun doute qu'une grande partie des facteurs de croissance décelée chez l'adulte peut être attribuée, comme nous l'avons admis pour le têtard de batracien et les larves d'insectes, à l'alimentation. Les divers aliments ingérés, de composition chimique extrêmement variée, subissent dans le tube digestif l'action des sucs ; ils se fragmentent en matières plus simples qui peuvent être absorbées. Les facteurs de croissance qui naîtraient du chimisme de la digestion feraient partie des substances que l'on trouve dans le contenu intestinal. D'ailleurs les expériences de KÖGL et de ses

collaborateurs sur les variations de la quantité d'auxine contenue dans l'urine humaine en fonction de l'alimentation montrent, nous l'avons déjà écrit, qu'un « sommet d'auxine » apparaît deux heures après le repas, et mettent ainsi en évidence la formation de l'hormone, aux dépens des aliments, dans le tube digestif où elle est absorbée. D'autre part certains faits que nous avons observés : la disparition de l'auxine, chez la larve et chez l'adulte de *Discoglosse* soumis au jeûne expérimental, l'absence ou l'infime quantité d'auxine constatée chez les insectes parfaits étudiés — organismes qui n'ont pas absorbé de nourriture — appuient cette manière de voir. Mais si la présence de substances auxiniques dans l'intestin : muqueuse et contenu, paraît avoir reçu une explication satisfaisante, il reste à examiner le problème délicat de la répartition hétérogène des hormones dans l'organisme. Il est très suggestif à cet égard de mettre en parallèle l'intestin où les auxines sont élaborées, le rein qui les excrète, et le sang qui devrait les véhiculer. En effet, comment comprendre la grande richesse en hormone de l'organe excréteur qu'est le rein, alors que la méthode expérimentale, qui nous révèle cette abondance, ne permet pas de déceler trace de ces substances dans le liquide sanguin, dont le rôle est de porter aux diverses parties de l'organisme les produits nourriciers qui proviennent de l'absorption intestinale ? On peut admettre que le sang ne contient que des doses infimes de substances actives qui, dans les conditions de travail où nous avons opéré, sont incapables de déclencher le stimulus d'élongation des plantes de test. Le rein, organe régulateur de la composition et de la concentration moléculaire du sang, interviendrait alors en retenant la substance hormonale qui serait condensée dans l'urine. L'élimination urinaire des facteurs de croissance serait comparable à celle de l'urée qui, bien que préexistant dans le sang, est restée longtemps cachée à l'observation des physiologistes parce qu'elle s'y trouve à dose très faible.

Toutefois, nous devons signaler que le sang qui a servi à nos essais a toujours été prélevé par ponction cardiaque ; il serait intéressant, à titre d'hypothèse de travail, de vérifier si le sang pris dans la veine porte d'un animal en période de digestion ne contient pas trace d'auxine décelable par notre méthode expérimentale. Dans l'affirmative, on pourrait supposer aussi une accumulation de l'hormone dans le foie, mais sous une forme combinée et inactive, puisque le tissu hépatique frais s'est toujours comporté négati-

tivement au cours de nos recherches. Et l'on pourrait admettre que c'est aux dépens de cette forme inerte qu'est créée l'auxine mise en évidence dans cet organe par les méthodes d'extraction chimique et par les processus d'autolyse.

La richesse en auxine de la paroi intestinale et l'absence d'hormone constatée dans le sang sont deux faits qui suggèrent également une hypothèse. On peut penser en effet qu'une grosse partie des substances de croissance qui traversent la muqueuse intestinale au cours de l'absorption est rendue inactive par combinaison à d'autres éléments, comme cela arrive pour de nombreux acides aminés qui disparaissent de l'intestin et qui ne sont retrouvés qu'en petite quantité dans le sang.

Bien que la première hypothèse sur le transport de l'auxine nous paraisse très acceptable, il est certain qu'un grand nombre d'expériences devront être entreprises pour élucider ce problème.

Quoi qu'il en soit, nous devons retenir de nos recherches que les facteurs de croissance décelés dans l'organisme adulte, sont répartis d'une façon tout à fait hétérogène et en grande quantité, seulement, dans les organes excréteurs. La richesse surprenante de la peau, à laquelle on attribue d'importantes fonctions dans le métabolisme général, nous a fait émettre, lors d'une note préliminaire, l'idée qu'elle devait son activité à ses produits de sécrétion et que la sueur pouvait en renfermer. Pour vérifier le bien-fondé de cette hypothèse, nous avons procédé à trois essais en utilisant chaque fois la sueur de personnes différentes. Deux fois seulement il nous a été permis d'aboutir à des résultats positifs et ceux-ci se sont toujours manifestés par des réponses de faible amplitude.

Mais s'il est probable qu'une part importante de ces substances auxiniques provient de la nourriture, il se peut aussi, et c'est là une hypothèse très vraisemblable, qu'elles naissent en partie, comme d'autres corps, de l'activité physiologique intracellulaire. On sait que les diverses opérations chimiques indispensables à la vie de la cellule sont effectuées en elle par ses diastases et que c'est grâce à leur intervention que l'organisme peut se débarrasser des cellules et des tissus déjà morts. Cette activité destructrice conduit à des éléments divers qui passent dans l'urine et parmi lesquels on a pu reconnaître des acides aminés. Et d'autre part, les expériences d'autolyse que nous avons pratiquées sur différents tissus animaux inactifs nous ont permis de constater la présence dans les produits de

dégradation de substances ayant à un haut degré la propriété caractéristique des auxines végétales. En tenant compte de la diversité des ferments mis en œuvre et de la complexité chimique des matières soumises à cette attaque au cours de l'opération, nous avons admis que parmi les facteurs actifs décelés pouvaient être de véritables auxines. Or les autodigestions réalisées *in vitro* ne sont que l'image agrandie des processus chimiques normaux qui s'accomplissent dans toutes les cellules de l'organisme. Aussi n'est-il pas illogique de dire que l'autolyse physiologique normale peut déterminer dans le corps de l'animal l'apparition de substances de croissance, par son action multiple sur les éléments vieillissants des tissus, et par son pouvoir de dédoublement des matériaux dont les produits de clivage sont indispensables à l'édification des tissus nouveaux. Ces hormones se formeraient dans tous les tissus, mais en très petite quantité dans la plupart d'entre eux, les phénomènes autolytiques étant dans les conditions normales de faible ampleur pour beaucoup d'organes. Tel serait le cas des parties de l'organisme où nous n'avons pu déceler des traces d'auxine. Les facteurs de croissance seraient emportés par le sang au fur et à mesure de leur formation, et, filtrés par le rein, ils s'accumuleraient dans l'urine. Par contre, dans les organes qui doivent édifier des tissus nouveaux, l'activité autolytique est plus forte et détermine la production d'une quantité plus grande de facteurs de croissance qui peut être mise en évidence par notre technique expérimentale.

L'hypothèse selon laquelle nous suggérons qu'une partie des facteurs de croissance trouvés chez l'adulte pourrait être engendrée par l'autolyse physiologique, qui s'accomplit d'une façon constante dans l'organisme animal, paraît en accord avec diverses observations. En premier lieu, avec les résultats de KÖGL qui admet que le jeûne pratiqué chez l'homme fait disparaître le « sommet d'auxine » sans entraîner la suppression de l'hormone, que l'on retrouve uniformément dans l'urine émise au cours de la journée. En second lieu, avec les conclusions de MASCHMANN qui a trouvé que la carence alimentaire ne provoque qu'une diminution de la quantité d'hormone de croissance. Il semble que ces faits autorisent à considérer une partie de l'hormone, notamment le « maximum » décelé deux heures après le repas, comme des auxines d'origine alimentaire et l'autre, celle qui persiste d'une manière uniforme au cours des expériences de jeûne, comme due, en partie au moins,

à l'activité autolytique des ferments endocellulaires qui s'exercerait sur les réserves de la cellule ou sur les principes nutritifs qui lui sont apportés par le sang. Nos recherches sur l'influence du jeûne chez le *Discoglosse* appuient cette thèse. Chez la larve, comme chez l'adulte, on constate d'abord une diminution de la teneur en auxine, puis leur disparition totale qui semble correspondre à l'épuisement des réserves cellulaires. La persistance de l'hormone dans le rein, alors que tous les autres organes se comportent négativement, permet aussi de faire intervenir l'autolyse cellulaire dans la formation de l'auxine chez la grenouille adulte.

Si les processus physiologiques d'autolyse sont plus ou moins masqués dans la vie normale de l'individu, ils peuvent, dans certains cas pathologiques, prendre une importance considérable. Ce rôle plus actif et exceptionnel de l'autolyse a été établi dans de nombreux cas et particulièrement dans la résorption rapide de l'exsudat fibrineux qui encombre les alvéoles du poumon au cours de la pneumonie. Ici interviennent en outre les leucocytes, et leur action destructive, ou hétérolyse, conduit à des produits divers qui sont éliminés dans les urines. L'on peut se demander encore si l'activité autolytique, considérablement accrue dans certains états pathologiques, n'agit pas dans le sens d'une production anormale de substances actives que l'on retrouverait dans certaines urines. Sur ce sujet, on doit rappeler les difficultés que rencontra KÖGL, lors d'une extraction d'auxines à partir d'un mélange d'urines provenant des hôpitaux d'Utrecht. Il ne put obtenir que très peu de matière cristallisée par suite de la présence d'une quantité exceptionnelle d'hétéroauxine. Le savant d'Utrecht, partant de l'observation qu'une durée de vingt-quatre heures est nécessaire pour que l'action *in vitro* des bactéries sur le tryptophane se traduise par l'apparition d'acide indol-3-acétique, a admis que la haute dose d'hétéroauxine pouvait être attribuée aux processus de putréfaction intestinale qui sont accrus chez des malades soumis au jeûne, l'évacuation des excréments n'étant plus régulière. Mais si cette explication paraît conforme à la vérité, on peut aussi admettre l'action des phénomènes autolytiques qui se manifestent avec force chez des individus frappés d'affections diverses : fièvre typhoïde, tuberculose, ou qui présentent des foyers purulents très actifs. Et le pouvoir protéolytique, qui est en général dans ces troubles le processus diastasique le plus suractivé, pourrait être une des causes de l'apparition anor-

male de l'hétéroauxine ou, tout au moins, de substances très proches au point de vue chimique, et qui seraient susceptibles d'être promptement converties en cet acide.

D'ailleurs, comme cause adjuvante, on peut retenir aussi l'influence du régime alimentaire puisque, ainsi que l'a démontré J. LEFÈVRE, l'hétéroauxine est présente dans de nombreuses plantes.

Citons encore, dans un autre ordre d'idées, les recherches déjà anciennes de MASCHMANN, puis celles de KÖGL, qui ont signalé l'existence d'auxines, le premier dans les tumeurs malignes, les carcinomes et sarcomes de souris, les sarcomes de poulet, le second dans les carcinomes humains. Mais, tandis que MASCHMANN essaie de leur attribuer un rôle dans la génèse et le développement des tumeurs, KÖGL n'enregistra aucune relation entre la teneur en hormone du carcinome et le degré de son évolution. Sur leur formation, aucune idée n'est exprimée. Pourtant la présence de facteurs de croissance se justifie pleinement par le fait que la cellule cancéreuse présente tous les attributs d'une cellule jeune, en voie de prolifération rapide, et qu'elle contient de nombreux ferments. Ayant conservé les capacités prolifératrices de la cellule embryonnaire, elle jouit du métabolisme très actif caractéristique de cette dernière. Et à côté de ce métabolisme ardent, qui pourrait à lui seul expliquer la formation des facteurs de croissance, se trouve encore l'action chimique qu'exerce la cellule cancéreuse lorsqu'elle envahit les tissus voisins et y détermine la lyse des éléments figurés.

Enfin l'hormone de croissance reconnue dans la salive (SEUBERT) que l'on considère comme ayant une origine bactérienne (BOYSEN-JENSEN) et que KÖGL a identifiée à l'acide indol-3-acétique, pourrait se former par une voie chimique analogue. C'est ce qu'autorise à penser la présence dans la salive d'une petite quantité de polypeptides (M. DELAUNAY et R. JAHIEL, 1935) et le fait que la salive peut décomposer les protéines qu'elle contient en utilisant des protéinases dont une minime partie revient à la flore saprophyte (P. FAULT et J. WEINMANN, 1935). L'action protéolytique de la salive s'exerce exclusivement sur ses propres protéines et les substances étrangères, telles que le blanc d'œuf, la fibrine, ne sont jamais attaquées. De l'ensemble de ces données, on peut avancer que l'hydrolyse des protéines pourrait être, au moins, une des étapes chimiques conduisant à la formation de l'hormone présente dans la salive humaine.

Bien que la plupart de ces conclusions ne puissent être considé-

rées comme définitives par suite de leur caractère trop souvent hypothétique, on peut néanmoins retenir des faits expérimentaux que nous avons exposés : que les facteurs de croissance décelés chez l'animal adulte proviennent pour une part de l'alimentation, et pour l'autre de l'activité métabolique endocellulaire.

Comparaison avec l'œuf et l'embryon.

Ainsi, des substances douées de fonction auxinique peuvent être décelées dans de nombreuses espèces animales, depuis l'œuf en voie de développement jusque chez l'adulte. Malgré quelques variantes que nous avons signalées en temps opportun, les faits expérimentaux rapportés conservent dans leur ensemble une valeur assez générale pour nous permettre une comparaison entre les divers phénomènes observés chez l'embryon et chez l'adulte du point de vue de l'origine, du mécanisme de formation et de la répartition topographique.

Dans l'œuf, les substances auxiniques n'apparaissent qu'à une certaine période du développement qui est la même pour chaque espèce zoologique, et leur présence, liée à l'activité des phénomènes physico-chimiques de l'embryogénèse, montre que le jeune organisme les fabrique aux dépens des réserves ovulaires. C'est à partir de réserves semblables, dispersées dans les tissus par la segmentation, que le têtard qui vient de naître peut émettre, au cours de sa phase larvaire, dite autotrophique, des quantités très importantes d'auxines. Mais à ces hormones qui dérivent des substances nutritives de l'œuf, s'ajoutent, assez tardivement chez le têtard, plus tôt chez les larves d'insectes ainsi que, nécessairement, chez l'adulte des vertébrés, les facteurs de croissance qui sont introduits dans l'organisme par l'alimentation. Les sources hormonales successivement utilisées par l'animal, suivant le stade d'évolution auquel il est parvenu, sont donc variables.

Toutefois, on peut admettre que les facteurs auxiniques, qu'ils soient d'origine purement endogène comme chez l'embryon non éclos, ou d'origine double : endogène et exogène, comme chez la larve de Discoglosse et l'animal adulte, résultent de processus chimiques similaires qui se manifestent par une digestion plus ou moins poussée de substances complexes, représentées, d'une part, par les matériaux constitutifs de l'œuf et, d'autre part, par les

réserves cellulaires des tissus et les divers aliments ingérés.

Or il est particulièrement intéressant de constater que parmi ces substances complexes, à partir desquelles sont élaborées les facteurs auxiniques, il en est, comme les réserves ovulaires et certains aliments (foie, muscle), qui sont sans action sur le test avoine. Mais ces matières que nous considérons comme pratiquement dépourvues de principes actifs, soumises à l'action des processus digestifs de l'embryogénèse, ou attaquées par les ferments digestifs de la cavité gastro-intestinale, libèrent, comme le font les tissus de l'adulte qui s'autolysent *in vitro*, des substances diffusibles dans un gel d'agar et douées de fonction auxinique. Le comportement de l'œuf en voie de développement, de même que l'émission de facteurs actifs par le foie, digéré ou autolysé, rappellent donc avec force, telle qu'on la conçoit aujourd'hui, la formation des substances de croissance dans les parties apicales de la plante aux dépens d'une matière inactive, le « précurseur d'auxine », qui provient de l'endosperme de la graine.

Il apparaît aussi que les facteurs auxiniques décelés dans les deux règnes existent sous deux formes différentes : l'une libre, directement active sur les plantules d'avoine, l'autre combinée, dont l'activité latente est subordonnée à une libération préalable. Celle-ci serait réalisée naturellement chez l'animal, au cours de l'embryogénèse et chez l'adulte, dans quelques organes qui ont une activité métabolique particulière, ou artificiellement, par les procédés divers d'extraction chimique et l'autolyse aseptique.

Quant à la localisation des substances hormonales, qui s'amorce chez l'embryon dès sa sortie de l'œuf, elle est fort significative. Tandis que ces hormones sont réparties uniformément chez la larve non éclosée, formée uniquement de cellules jeunes travaillant de la même manière, elles se distribuent d'une façon hétérogène chez le têtard âgé de quelques jours. Et l'on constate finalement que chez l'adulte, abstraction faite des organes qui par leurs fonctions sont susceptibles d'en renfermer une grande quantité provenant de l'alimentation (rectum, rein), il n'y a que quelques territoires cellulaires qui en soient pourvus sous la forme libre directement détectable. Ces faits expérimentaux, en même temps qu'ils mettent en évidence les changements profonds et généraux qui se manifestent dans le métabolisme de l'animal au cours de son cycle évolutif, indiquent que certains organes conservent chez

l'adulte un fonctionnement physiologique plus ou moins comparable à celui de l'embryon. Ceci devient tout à fait compréhensible quand on sait qu'il existe, dans l'organisme adulte, des cellules dont l'évolution normale a été arrêtée au cours de l'embryogénèse. Ces cellules, présentes dans la peau, les glandes génitales mâles et femelles, sont susceptibles de reprendre, à un moment donné, leurs capacités prolifératrices, voisines de celles des cellules embryonnaires, pour assurer la régénération des cellules vieilles de l'épiderme ou l'édification des tissus nouveaux. Ainsi certains organes conservent, au moins en partie, un caractère embryonnaire et il est évident qu'ils doivent posséder un métabolisme, sinon identique, du moins voisin de celui de la cellule jeune. Le fait de retrouver des hormones de croissance dans la peau, l'ovaire et le testicule, dans ces deux derniers en quantité très faible, il est vrai, rappellerait donc la particularité histologique de ces organes et témoignerait de leur fonctionnement physiologique un peu spécial.

C. — *Rôle physiologique des auxines.*

Si les auxines végétales ont été mises en évidence depuis quelques années dans les tissus animaux et sont obtenues à l'état pur et cristallisé à partir de l'urine humaine, leur rôle physiologique, par contre, n'a fait l'objet que d'un petit nombre de recherches et reste pratiquement encore inconnu.

Il serait donc hâtif, à l'heure présente, d'adopter d'une manière définitive les conclusions négatives apportées par divers auteurs et qui ne s'appuient, semble-t-il, que sur une expérimentation insuffisamment étendue.

Pour KÖGL et d'autres chercheurs, l'auxine pure et cristallisée reste sans action sur la croissance de jeunes organismes en voie de développement et n'exerce aucune influence sur les cultures de tissus animaux. Mais différentes objections peuvent être opposées à ces résultats qui nient toute signification physiologique à la présence de l'hormone dans le règne animal. On peut admettre en effet que l'auxine pure administrée à des animaux en voie de croissance reste inopérante parce qu'elle arrive dans un organisme qui est lui-même, nous l'avons vu, capable d'en élaborer et qui en est richement pourvu. De même, les essais infructueux concernant l'addi-

tion d'auxine cristallisée au milieu nutritif sur lequel se développent des cultures de tissus *in vitro* peuvent être imputés au fait que le substratum constitué par des extraits embryonnaires contient vraisemblablement assez d'hormone pour suffire aux besoins des cellules repiquées et pour assurer la multiplication de toute la colonie cellulaire. L'auxine provenant d'un apport étranger ne serait pas utilisée dans de telles conditions.

Ainsi les premières tentatives effectuées dans le but de savoir si les auxines végétales exercent un effet dans l'organisme animal, où on les rencontre d'une manière si générale, sont restées vaines, et conduisent à l'hypothèse qu'elles ne servent à rien. Comme elles sont sans action sur la croissance animale, on pourrait les considérer, soit comme des produits de déchet du métabolisme cellulaire, soit comme des substances d'origine alimentaire qui passeraient simplement dans l'organisme des animaux pour réparaître à peu près inchangées dans leurs excréments.

Mais nous avons vu aussi, et exposé, les résultats des recherches de R. RAMSEYER et R. MARTIN DU PAN qui accordent aux auxines végétales une certaine influence sur le développement de la cellule animale en culture pure. Si la technique de ces auteurs ne met pas spécifiquement en évidence l'action de l'auxine, mais un mélange de diverses substances contenues dans le jus de broyage des pollinies d'orchidées, leurs conclusions positives permettent néanmoins de croire à un rôle possible des auxines sur la croissance de certains tissus animaux.

De plus, rien n'autorise à admettre *a priori* une identité complète entre les facteurs de croissance décelés dans l'embryon et dans certains tissus de l'animal adulte avec les auxines végétales *a* et *b*. Nous avons conclu à l'existence d'un complexe de facteurs dans lequel pouvaient entrer en outre, l'hétéroauxine et d'autres dérivés de l'acide indol-3-acétique. Or, il a été vu que divers acides aminés : glycolle, tryptophane, acide phényl- β -alanine, acide glutaminique, favorisent la genèse des fibres élastiques *in vitro* (ODIETTE, 1932). De même, le scatol exerce un effet activateur de croissance quand il est ajouté à faible dose (1/150.000) à une culture de fibroblastes de cœur d'embryon de poulet ou de cellules rénales de rat nouveau-né (J. VERNE et P. KUBIKOWSKI, 1936).

D'autre part, CARNOT a pu extraire d'embryons et d'organes adultes en prolifération active des substances, les cytopoïétines, qui

interviennent favorablement par la formation de nouvelles cellules dans les processus de croissance et sur la régénération des organes. Ces substances embryonnaires de croissance sont toutefois spécifiques : les néphropoïétines, provenant du rein en régénération excitent la prolifération du rein, comme les dermatopoïétines, issues de régénérations cutanées, excitent la prolifération cutanée.

Aussi se peut-il que les substances complexes douées de fonction auxinique que nous avons mises en évidence aient, sur la vie cellulaire, comme les divers produits et extraits précédents, une action physiologique plus ou moins importante qui reste à démontrer. Leur efficacité énergétique sur l'élongation de la membrane cellulaire végétale, voisine de celle que possèdent les véritables auxines, leur formation dans l'embryon aux dépens des matériaux de l'œuf suivant un processus qui rappelle l'élaboration de l'auxine dans les organes de la plante à partir d'un « précurseur » issu de la graine, sont des arguments qui incitent à ne pas les considérer comme des substances banales du métabolisme cellulaire destinées à être éliminées, mais plutôt à leur attribuer des fonctions physiologiques plus ou moins comparables à celles qu'exercent les phytohormones dans l'organisme végétal.

Si ces dernières, bien connues, jouent dans la plante un rôle aux aspects multiples, elles sont surtout remarquables par le fait qu'elles contrôlent et dirigent la croissance. Or, les facteurs auxiniques apparaissent dans l'embryon de *Discoglosse* à un stade précis qui correspond à une croissance intense ; ils manifestent leur présence dans les organes de l'adulte, et plus spécialement chez ceux où se révèlent des processus de rénovation cellulaire ; ils se trouvent encore dans la nymphe où s'édifie l'insecte parfait. On peut donc se demander si les phénomènes de corrélation qui s'observent dans ces différents états ne sont pas plus ou moins sous leur dépendance.

Examinons à ce sujet les conclusions que nous avons tirées de notre étude sur le développement de l'œuf de *Discoglosse*. Notre technique ne permet pas de déceler d'auxine pendant la phase de segmentation qui aboutit à la gastrula, mais elle montre que l'hormone est élaborée peu après en quantité considérable. Les recherches embryologiques montrent, d'autre part, que la segmentation de l'œuf de batracien ne comporte pas une fixation définitive du sort de chaque blastomère et que, à ce stade précoce, les lésions

partielles ne sont pas suivies de déficit chez l'embryon. Ainsi à cette époque du développement, les différentes régions cellulaires sont totipotentes et permettent d'observer le phénomène de réorganisation spontanée qu'est la régulation embryonnaire. On dit que la segmentation de l'œuf est indéterminée. Mais ces possibilités d'évolution étendue que présente l'œuf disparaissent bientôt par suite de la différenciation du germe. A la fin de la gastrulation, l'œuf n'est plus qu'un agrégat d'ébauches plus ou moins spécialisées, qu'une mosaïque d'espèces cellulaires différant les unes des autres par leur morphologie et leur physiologie. Il se crée dans l'œuf une série de zones à métabolisme élevé, et ces zones qui se différencient les premières conditionnent par la suite la croissance et l'organisation des territoires voisins. Ainsi apparaissent des corrélations morphogènes qui s'exercent entre les diverses parties de l'ébauche embryonnaire et qui limitent la part que prend chacune d'elles dans l'édification de l'individu. Et l'on admet que leur mécanisme d'action fait intervenir des substances solubles du type hormonal qui, émancipées de groupements cellulaires, diffusent de proche en proche dans les tissus en contact. Cette conception rappelle donc avec assez de ressemblance les corrélations fonctionnelles végétales et la propagation des hormones dans les tissus de la plante.

Si nos expériences ne décèlent pas de substance active sur l'élongation cellulaire pendant toute la segmentation de l'œuf, où toutes ses parties paraissent indépendantes les unes des autres, elles les révèlent par contre en quantité considérable dans les temps suivants où le métabolisme devient important et où l'embryon évolue dans le sens d'une différenciation cellulaire très poussée. Et l'on peut se demander si les facteurs de croissance, que nous décelons seulement à ce stade, ne joueraient pas un rôle de « messagers chimiques » ; diffusant des régions à haut métabolisme, ils contrôlèrent les zones d'activité plus faible et régleraient la détermination qui conduit au stade adulte.

D'ailleurs, n'y a-t-il pas une analogie frappante entre certaines données apportées récemment par J. NEEDHAM, C. H. WADDINGTON et D. M. NEEDHAM (1934) et les faits que nous avons observés ? Des recherches de ces derniers auteurs, il ressort en effet que des phénomènes d'induction peuvent être déclenchés sur diverses gastrulas d'amphibiens par l'action d'extraits éthérés de neurulas de triton. La substance inductrice décelée à ce stade de l'embryogénèse est

donc soluble dans l'éther et est présente dans le germe au moment même où nous pouvons mettre en évidence des facteurs de croissance dans l'œuf de *Discoglosse* en voie de développement. Ainsi apparaît un ensemble de faits qui suggère l'idée d'une parenté chimique entre les hormones d'élongation cellulaire et la substance inductrice découverte par le physiologiste anglais ; et il semble que des recherches entreprises dans cette direction pourraient aboutir à des conclusions fort intéressantes.

L'étude de *Bombyx mori* et de *Lucilia sericata* au cours des différents stades de la métamorphose est également fort suggestive. PÉREZ distingue trois grands ensembles de processus histologiques. D'abord, la disparition des organes les plus différenciés et les plus spéciaux de la larve qui sont frappés d'atrophie par histolyse phagocytaire. Puis, le développement des organes définitifs de l'imago aux dépens des disques imaginaires ou histoblastes. Et enfin, la transmission de la larve à l'insecte parfait d'organes moins spécialisés qui ne subissent sur place que de « simples remaniements ». D'après cet auteur, la caractéristique de ces remaniements est la dédifférenciation, ou retour à l'état embryonnaire des cellules. La cellule élimine ses parties les plus différenciées et quelquefois même une partie de sa chromatine ; elle subit une épuration partielle. Rajeunie, elle se divise ensuite activement, puis repart vers une nouvelle différenciation.

La reconstruction de l'insecte parfait s'opère donc à partir d'îlots cellulaires (histoblastes) de formation ancienne puisqu'on les trouve déjà dans le germe, et de groupements de cellules retournées à l'état embryonnaire ; les uns et les autres manifestent spontanément des capacités évolutives considérables. Et ces éléments se développent aux dépens des réserves accumulées par la larve et des tissus de celle-ci préalablement transformés. Un tel processus rappelle la phase embryonnaire du développement de la chenille, où le germe assure sa croissance à partir des réserves ovulaires. L'émission cyclique de facteurs auxiniques au cours des métamorphoses, d'abord par le jeune embryon, puis par la chrysalide — après une période d'inertie ou de faible activité vitale —, à des stades où leurs processus physiologiques sont assez voisins, suggère que ces matières pourraient jouer un rôle dans les corrélations morphogénétiques dont ils sont le siège. En effet, elles sont mises en évidence d'abord dans le germe au moment où certaines cellules subis-

sent une première différenciation qui leur permet de prendre place dans la coordination physiologique de l'organisme larvaire. Leur absence chez la chenille arrivée au terme final de son évolution correspondrait à la crise de coordination qui est manifeste à ce stade et qui se prolonge pendant les premiers temps de la nymphose. Par la suite, leur apparition, d'abord en très petite quantité, puis à dose légèrement plus élevée, serait consécutive de la nouvelle phase d'organisation cellulaire.

De même, la présence de substances du type des auxines végétales dans la peau semble correspondre à la capacité de croissance que conserve l'épiderme pendant toute la vie et par laquelle il peut régénérer d'une façon continue ses cellules vieilles et usées. Cette fonction est assurée grâce à un mécanisme embryonnaire extrêmement important, constitué par les cellules basales de la couche germinative située près du derme. Et l'on peut se demander si l'évolution de ces cellules ne serait pas contrôlée et dirigée par les facteurs hormonaux de ce genre, non seulement dans les processus réguliers et normaux mais aussi dans les phénomènes de régénération plus complexes que déclenche un traumatisme violent atteignant le derme. Dans ce dernier cas, le derme qui ne montre pas de divisions cellulaires reprend sa capacité de croissance, se régénère en donnant du tissu cicatriciel. Après quoi, il provoque la multiplication des cellules de l'épiderme.

Ces hypothèses nous conduisent aux faits observés dans la cicatrisation des plaies traitées par des extraits de larves de *Lucilia sericata*. M. ANDRÉ qui a étudié leur action thérapeutique signale que « tout se passe comme si le suc des larves de *Lucilia sericata* contenait une substance qui digère le tissu nécrosé, et comme s'il modifiait chimiquement le foyer même de la suppuration, provoquant un réveil de la tonicité de la plaie ». Et le même auteur ajoute que les principes actifs obtenus en broyant des larves vivantes avec de la solution physiologique, et utilisés après filtration sur filtre Berkefeld, ne sont pas protéolytiques. Ils sont stables à la chaleur et constitués par une solution de protéines dans laquelle la glucosamine, la tyrosine et le tryptophane dominant. Il se pourrait donc que l'action bienfaisante exercée par ces extraits, constatée dans de nombreux traitements, soit due aux facteurs de croissance que nous avons décelés abondamment dans la larve helminthoïde de *Lucilia sericata*. Par l'application des larves vivantes on obtient

aussi d'excellents résultats. On les explique en faisant intervenir soit une irritation mécanique exercée sur les tissus par les nombreuses épines qui hérissent les anneaux du ver (BUCHMANN et BLAIR), soit le nettoyage de la plaie et la sécrétion de substances favorables à la cicatrisation. Il semble là encore que l'on peut rapprocher ces substances de produits qui sont actifs sur l'élongation de nos coléoptiles. Nous avons vu aussi, que l'intestin de la larve de *Lucilia* émet des enzymes (tryptase, peptase, lipase) qui, d'après HOBSON, peuvent ainsi assurer une digestion extra-intestinale. Ainsi, à l'action des facteurs de croissance élaborés par la larve elle-même, pourrait s'ajouter celle des produits de même nature provenant de l'attaque par ces ferments digestifs des tissus nécrosés de la plaie.

Mais, si les phénomènes de régénération des organes sont relativement réduits chez les vertébrés adultes, et en particulier chez les animaux les plus élevés en organisation, ils sont par contre extrêmement étendus chez de nombreux invertébrés inférieurs (Coelentérés, Vers). L'étude physico-chimique du corps de certaines planaires (Turbellariés triclades) entreprise par CHILD et ses élèves souligne que les zones inductrices sont les plus sensibles à l'égard des agents toxiques ou destructeurs (cyanures, chlorure de magnésium, radiations, etc.) et indique une activité métabolique décroissante dans un sens constant suivant l'axe du corps. Cette variation progressive du métabolisme, qui sert de base à la théorie des « gradients métaboliques » ou « gradients axiaux » de CHILD, prouve l'existence de centres dynamiques plus ou moins efficaces qui s'échelonnent le long du corps. Bien que l'émission d'hormones solubles n'ait pas été jusqu'ici démontrée, on peut supposer, à titre d'hypothèse de travail, que ces centres doués d'un métabolisme élevé élaborent des substances semblables, sinon identiques, aux facteurs d'élongation cellulaire que nous avons décelés dans différents œufs et dans diverses larves. Ces matières actives diffuseraient de proche en proche le long de l'axe des gradients et exerceraient un contrôle humoral grâce auquel s'établirait l'unité physiologique et anatomique de l'individu. L'isolement expérimental, rompant le système de corrélations, permettrait à la partie libérée de manifester son indépendance par les possibilités d'évolution qu'elle a en elle et qui jusque-là étaient restées latentes dans l'organisme complet. De même, les variations de condition de vie (température, nutrition, etc.) qui dans la nature sont plus ou moins

favorables, en amenant un ralentissement ou une suractivité des divers centres métaboliques du gradient axial, détermineraient une fluctuation des quantités de facteurs hormonaux et, par là, un déséquilibre fonctionnel analogue à celui qui est provoqué par l'isolement artificiel d'un fragment de l'être vivant. Des parties de l'organisme seraient ainsi libérées physiologiquement du contrôle humoral et pourraient manifester à leur tour des potentialités restées inactives chez l'individu normal. Celles-ci aboutiraient aux divers processus bien connus de scissiparité, de bourgeonnement, de gemmulation et, d'une façon plus générale, à la reproduction asexuée.

Telles sont, dans leurs grandes lignes, les principales idées que nous suggère la présence de facteurs auxiniques dans les tissus animaux. Les expériences d'autolyse, réalisées *in vitro*, qui nous ont permis de provoquer l'apparition de telles substances dans divers organes animaux, inactifs à l'état frais dans notre technique de diffusion, nous ont fourni des bases chimiques que nous avons utilisées pour comprendre la formation de l'auxine dans les œufs en voie de développement, dans la nymphe et aussi, en partie, dans les larves et chez l'adulte. En indiquant que les corrélations fonctionnelles qui s'exercent dans l'organisme animal peuvent être tributaires des substances de croissance, nous avons tracé différentes voies d'expérimentation nouvelle. Mais, la plupart des opinions émises ne sont proposées que comme des hypothèses, sans doute provisoires, que les recherches futures détruiront peut-être. Elles ont au moins, pour l'instant, le mérite de montrer toute la complexité du problème posé.

Résumé général et conclusion

Nos recherches personnelles sur les substances de croissance comparables aux auxines végétales que l'on rencontre chez les animaux, ont mis en évidence les résultats essentiels suivants :

- 1° L'œuf de plusieurs animaux, fraîchement pondu, qu'il soit fécondé ou non, paraît ne pas contenir de substances actives. Il en est également dépourvu pendant les diverses phases de la segmentation. Mais à un stade plus avancé de l'embryogénèse, variable pour les animaux étudiés ; mais constant pour une espèce donnée, elles ne tardent pas à se révéler.

2° Il semble que la présence de facteurs de croissance dans l'œuf en voie d'évolution dérive des phénomènes digestifs qui se succèdent et s'enchaînent au cours de l'embryogénèse.

3° L'origine endogène des substances auxiniques qui sont détectées dans les embryons non éclos, chez le jeune têtard de *Discoglosse* parvenu au stade de sa vie larvaire dit « autotrophique » et pendant la nymphose des insectes, implique qu'elles sont le résultat de la dégradation des différentes réserves nutritives contenues dans l'œuf, dans les tissus du têtard et dans la chrysalide. Ces réserves, inactives au départ en tant que facteurs d'élongation cellulaire, seraient désintégrées par les phénomènes digestifs et, parmi les produits plus simples qu'elles libéreraient, certains seraient doués de fonction auxinique.

4° La quantité considérable de substances actives émises par les embryons de *Discoglosse* qui assurent leur croissance par un catabolisme essentiellement protéique, la dose très faible, ou presque infime, décelée dans ceux de *Bombyx mori*, de *Lucilia sericata* et du Poulet, qui sont issus d'œufs aériens dont la source énergétique réside surtout dans le catabolisme des graisses, indiquent que la production d'auxine est dépendante du mode de développement de l'œuf.

5° Chez les larves d'insectes, qui s'alimentent abondamment, l'hormone de croissance, purement exogène, provient de la démolition digestive des substances alimentaires ingérées. Mais chez la larve de *Discoglosse*, comme en général chez l'adulte, on peut révéler, indépendamment des auxines d'origine alimentaire que le jeûne fait disparaître plus ou moins rapidement, l'existence de facteurs auxiniques qui paraissent engendrés par l'activité des ferments endocellulaires.

6° Les hormones de croissance, qui sont réparties uniformément dans le jeune organisme non éclos, sont disposées d'une manière hétérogène dans la larve de *Discoglosse* âgée de quelques jours seulement. Chez l'animal adulte, la localisation se précise nettement et tandis que certains organes en sont totalement privés, d'autres, qui remplissent dans l'organisme des rôles digestifs et excréteurs importants, ou qui possèdent des propriétés physiologiques spéciales, en renferment des quantités qui sont parfois très fortes.

7° Enfin nos expériences d'autolyse aseptique qui montrent que

l'on peut faire apparaître *in vitro* des facteurs auxiniques à partir de certains organes et tissus de vertébrés : foie, rate, sang, lesquels à l'état frais n'en contiennent pas, apportent des notions chimiques susceptibles d'éclairer les processus qui, dans l'embryogénèse, la digestion naturelle et l'autolyse physiologique, aboutissent à l'élaboration d'hormone. Elles permettent de supposer en outre que les substances actives existent dans le règne animal sous les deux états : combiné et libre, qui sont les formes reconnues chez la plante.

BIBLIOGRAPHIE

1934. — ALMOSLECHNER (E.). — Die Hefe als Indikator für Wuchsstoffe. *Planta*, t. XXII, pp. 515-542.
1933. — AMLONG (H. U.). — Untersuchungen über die Beziehungen zwischen geoelektrischem Effekt und Geotropismus. *Planta*, t. XXI, pp. 211-250.
- 1936 a. — AMLONG (H. U.). — Der Einfluss des Wuchsstoffes auf die Wanddehnbarkeit der Vicia-faba-Wurzel. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LIV, pp. 271-275.
- 1936 b. — AMLONG (H. U.). — Zur Frage der Wuchsstoffwirkung auf das Wurzelwachstum. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIII, pp. 773-780.
1937. — AMLONG (H. U.). — Über die Bedeutung des Wuchsstoffes für Wachstum und Geotropismus der Wurzel. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LV, pp. 183-186.
1938. — AMLONG (H. U.). — Wuchsstoffhaltige Warmbäder als Wurzeltreibmittel bei Stecklingen. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LVI, pp. 239-246.
1915. — ARISZ (W. H.). — Untersuchungen über den Phototropismus. *Rec. Trav. Bot. néerl.*, t. XII, pp. 44-216.
1934. — AVERY (G. S.). — Structural responses to the practice of topping tobacco plants : a study of cell size, and veinage of leaves at different levels on the stalk. *Botan. Gazette*, t. XCVI, pp. 314-329.
1935. — AVERY (G. S.). — Differential distribution of a phytohormone in the developing leaf of *Nicotiana*, and its relation to polarized growth. *Bull. Torrey Bot. Club*, t. LXII, pp. 313-330.
1936. — AVERY (G. S.). — Polarized growth and cell studies on the *Avena* coleoptile, phytohormone test object. *Bull. Torrey Bot. Club*, t. LXIII, pp. 1-16.
1938. — AVERY (G. S.). — La notion de Phytohormones, leurs rapports avec les stimulants et l'irritabilité des plantes. *Et. et Recher. sur les Phytohormones. Inst. int. de Coop. intell. Soc. des Nat.*, pp. 49-54.
1936. — AVERY (G. S.), BURKHOLDER (P. R.) and CREIGHTON (H.). — Plants hormones and mineral nutrition. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XII, pp. 673-678.
- 1937 a. — AVERY (G. S.), BURKHOLDER (P. R.) and CREIGHTON (H.). — Production and distribution of growth hormone in shoots of *Aesculus* and *Malus*, and its probable role in stimulating cambial activity. *Amer. Journ. Botany*, t. XXIV, pp. 51-58.
- 1937 b. — AVERY (G. S.), BURKHOLDER (P. R.) and CREIGHTON (H.). — *Avena* coleoptile curvature in relation to different concentrations of certain synthetic substances. *Amer. Journ. Botany*, t. XXIV, pp. 226-231.
- 1934 a. — BABIČKA (J.). — Die Wuchsstoffe. *Beih. Bot. Centralbl.*, A, t. LII, pp. 449-484.

- 1934 b. — BABIČKA (J.). — Analyse der aus pflanzlichen Organen exosmodierenden Stoffe. *Beih. Bot. Centralbl.*, A, t. LIII, pp. 485-505.
1933. — BAFRET (O.), DUNAND (R.) et VEIL (C.). — Sur la transmission de l'excitation phototropique dans la coléoptile d'avoine. *Ann. Physiol. et phys. chim. biol.*, t. IX, pp. 867-871.
1935. — BAUGUESS (L. C.). — Plant responses to some indole derivatives. *Amer. Journ. Botany*, t. XXII, p. 910.
1937. — BEAL (J. M.). — Bud development in *Lilium harrisii* following treatment with indolacetic acid. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXIII, pp. 304-306.
1935. — BERLESE (A.). — *Gli Insetti*, Volume secondo. La ninfosi, pp. 288-327. Società Editrice Libreria Milano.
- 1936 — BERRIER (H.). — Influence du jeûne, chez le têtard de *Discoglossus pictus* Otth, sur la teneur en substances fonctionnant comme les auxines végétales. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCIII, pp. 523-525.
- 1937 a. — BERRIER (H.). — Sur la présence et la répartition de substances fonctionnant comme les auxines végétales chez *Discoglossus pictus* Otth adulte. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIV, p. 1319.
- 1937 b. — BERRIER (H.). — Sur la répartition de substances fonctionnant comme les auxines végétales dans l'organisme du cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXV, p. 743.
- 1937 c. — BERRIER (H.). — Sur les matières actives du type des auxines végétales qui peuvent se révéler au cours du cycle évolutif de *Lucilia* sp. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVI, pp. 453-454.
- 1937 d. — BERRIER (H.). — Les substances du type des auxines végétales au cours de l'évolution de *Bombyx mori* L. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCV, pp. 1009-1011.
- 1939 a. — BERRIER (H.). — Sur la présence de substances fonctionnant comme les auxines végétales dans le sang et divers organes autolysés du *Discoglossus* et du cobaye. *Ibid.*, t. CCVIII, pp. 1677-1679.
- 1939 b. — BERRIER (H.). — Sur les substances du type « auxines » qui peuvent se révéler dans l'œuf incubé de poule et chez l'oiseau adulte. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, pp. 941-942.
- 1939 c. — BERRIER (H.). — A propos des substances du type « auxines » décelées dans l'embryon de poulet. *Ibid.*, pp. 943-944.
1914. — BERTHELOT (A.). — Recherches sur le *Proteus vulgaris*. III. B. Etude de la fonction indologène. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXVIII, pp. 849-865.
1937. — BERTHELOT (A.) et AMOUREUX (G.). — Sur la sensibilité des plantules aseptiques à quelques substances carcinogènes. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCIV, p. 517.
- 1938 a. — BERTHELOT (A.) et AMOUREUX (G.). — Sur la formation d'acide indol-3-acétique dans l'action de *Bacterium tumefaciens* sur le tryptophane. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, p. 537.
- 1938 b. — BERTHELOT (A.) et AMOUREUX (G.). — Sur la formation de l'acide indol-3-acétique par action du rayonnement ultra-violet sur le tryptophane. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, p. 1938.
1926. — BEYER (A.). — Ueber die Lichtwachstumsreaktion apophototropischer Avenakoleoptilen. Ein Beitrag zur Prüfung der Blaauwsken Theorie des Phototropismus. *Planta Archiv. f. wis. Bot.*, t. II, pp. 367-372.
1927. — BEYER (A.). — Zur Keimungsphysiologie von *Avena sativa*. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XLV, pp. 179-187.

1928. — BEYER (A.). — Beiträge zum Problem der Reizleitung. *Zeitschr. für Bot.*, t. XX, pp. 321-417.
1932. — BEYER (A.). — Untersuchungen zur Theorie der pflanzlichen Tropismen. *Planta*, t. XVIII, pp. 509-524.
1935. — BOAS (F.). — Vergleichende Untersuchungen über Wachstumsanreger in einheimischen Pflanzen. Beiträge zur Wirkungsphysiologie einheimischer. Pfl. II. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LIII, pp. 491-511.
1932. — BONNER (J.). — The production of growth substance by *Rhizopus suinus*. *Biol. Zentralbl.*, t. LII, pp. 565-582.
- 1933 a. — BONNER (J.). — Studies on the growth hormone of plants. IV. On the mechanism of the action. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XIX, pp. 717-719.
- 1933 b. — BONNER (J.). — The action of the plant growth-hormone. *Journ. gen. Physiol.*, t. XVII, pp. 63-76.
- 1934 a. — BONNER (J.). — The relation of hydrogen ions to the growth rate of the *Avena* coleoptile. *Protoplasma*, t. XXI, pp. 406-423.
- 1934 b. — BONNER (J.). — Studies on the growth hormone of plants. V. The relation of cell elongation to cell wall formation. *Proc. nat. Acad. Sci. Washington*, t. XX, pp. 393-397.
1935. — BONNER (J.). — Zum Mechanismus der Zellstreckung auf Grund der Micellarlehre. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXII, pp. 377-412.
- 1936 a. — BONNER (J.). — Plant tissue cultures from a hormone point of view. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXII, pp. 426-430.
- 1936 b. — BONNER (J.). — The growth and respiration of the *Avena* coleoptile. *Journ. gen. Physiol.*, t. XX, pp. 1-11.
1937. — BONNER (J.) and ENGLISH (J.). — Purification of traumatin, a plant wound hormone. *Science*, t. LXXXVI, p. 352.
1935. — BONNER (J.) and HEYN (A. N. J.). — Cell elongation and the electrical properties of the cell wall. *Protoplasma*, t. XXIV, pp. 466-469.
1935. — BONNER (J.) and THIMANN (K. V.). — Studies on the growth hormone of plants. VII. The fate of growth substance in the plant and the nature of the growth process. *Journ. gen. Physiol.*, t. XVIII, pp. 649-658.
1928. — BORESCH (K.). — Zur Biochemie der fröhrtreibenden Wirkung des Warmbades. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCLII, pp. 180-201.
1937. — BORRIS (H.). — Die Beeinflussung des Streckungswachstums durch Salze. I. Mitteilung : Die Wirkung von einigen Salzlösungen auf das Wachstum etiolierter Keimlinge. *Jahrb. wiss. Bot.*, t. LXXXV, pp. 732-769.
1934. — BOTTELIER (H. P.). — Ueber den Einfluss äusserer Faktoren auf die Protoplasmaströmung in der *Avena*-koleoptile. *Rec. trav. bot. néerl.*, t. XXXI, pp. 474-582.
1935. — BOTTELIER (H. P.). — Oxygen as limiting factor of the protoplasmic streaming in *Avena* coleoptiles of different ages. *Rec. trav. bot. néerl.*, t. XXXII, p. 287-292.
1938. — BOUILLENNE (R.). — L'action des phytohormones sur la croissance. La division des cellules et l'organogénèse. *Et. et rech. sur les phytohormones. Inst. Internat. de Coop. intell. Soc. des Nat.*, pp. 55-70.
1938. — BOUILLENNE (R.) et BOUILLENNE (M.). — Contribution à l'étude des facteurs de la néoformation et de la croissance des racines. Rhizocaline, hétéroauxine, acides aminés, vitamine B₁. *Bull. Soc. Roy. Bot. de Belgique*, t. LXXI, 2^e série, t. XXI, fasc. I, pp. 43-67.
1933. — BOUILLENNE et WENT (F. W.). — Recherches expérimentales sur la

- néoformation des racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures. *Arch. Inst. bot. Univ. de Liège*, t. X, pp. 1-178.
1936. — BOYD (L.) and AVERY (G. S.). — Grass seedling anatomy : the first internode of Avena and Triticum. *Botanical Gazette*, t. XCVII, n° 4, pp. 765-779.
1910. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Ueber die Leitung des phototropischen Reizes in Avena-Keimpflanzen. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XXVIII, pp. 118-120.
1911. — BOYSEN-JENSEN (P.). — La transmission de l'irritation phototropique dans l'Avena. *Bull. Acad. Roy. Danmark*, n° 1, pp. 3-24.
1928. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Die phototropische Induktion in der Spitze der Avena-koleoptile. *Planta*, t. V, pp. 464-477.
1931. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Ueber Wachstumsregulatoren bei Bakterien. *Bioch. Zeitschr.*, t. CCXXXVI, pp. 205-210.
1932. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Ueber die Bildung und biologische Bedeutung des Wachstumsregulators bei Aspergillus niger. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCL, pp. 271-280.
- 1933 a. — BOYSEN-JENSEN. — Ueber die durch einseitige Lichtwirkung hervorgerufene transversale Leitung des Wuchsstoffes in der Avena-koleoptile. *Planta*, t. XIX, pp. 335-344.
- 1933 b. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Ueber den Nachweis von Wuchsstoff in Wurzeln. *Planta*, t. XIX, pp. 345-350.
- 1933 c. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Die Bedeutung des Wuchsstoffes für das Wachstum und die geotropische Krümmung der Wurzeln von Vicia faba. *Planta*, t. XX, pp. 688-698.
1934. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Ueber Wuchsstoff in Wurzeln, die mit Erythrosin vergiftet sind. *Planta*, t. XXII, pp. 404-410.
1935. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Die Wuchsstofftheorie (Iena).
1937. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Ueber eine Mikromethode zur quantitativen Bestimmung der Wuchsstoffe der A-Gruppe. *Planta*, t. XXVI, pp. 584-595.
1938. — BOYSEN-JENSEN (P.). — Les phytohormones et les mouvements des plantes. *Et. et Rech. sur les Phytohormones, Inst. Internat. de Coop. intell. Soc. des Nat.*, pp. 71-84.
1926. — BOYSEN-JENSEN (P.) und NIELSEN (N.). — Studien über die hormonalen Beziehungen zwischen Spitze und Basis der Avena-koleoptile. *Planta*, t. I, pp. 321-332.
1936. — BRACHET (J.) et NEEDHAM (J.). — Etude du métabolisme de l'œuf de grenouille (*Rana fusca*) au cours du développement. 4. La teneur en glycogène de l'œuf, de la segmentation à l'éclosion. *Arch. de Biol.*, t. XLVI, pp. 821-835.
1937. — BRANNON (M. A.). — Algae and growth substances. *Science*, t. LXXXVI, p. 353.
1935. — BRAUNER (L.). — Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Wasserpermeabilität lebender Pflanzenzellen. *Rev. Fac. So. Univ. d'Istanbul*, t. I, pp. 50-55.
1933. — BRAUNER (L.) und AMLONG (H. U.). — Zur Theorie des geoelektrischen Effekts. *Protoplasma*, t. XX, pp. 279-292.
1930. — BRAUNER (L.) und BÜNNING (E.). — Geoelektrischer Effekt und Elektrotropismus. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XLVIII, pp. 470-476.
1936. — BRECHT (F.). — Der Einfluss von Wuchsstoff und Säurepasten auf das Wachstum von Avena- und Helianthus-keimlingen und seine Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt der Luft. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXII, pp. 581-612.

1936. — BROWN (N. A.) and GARDNER (F. E.). — Galls produced by plant hormones, including a hormone extracted from *Bacterium tumefaciens*. *Phytopath.*, t. XXVI, pp. 708-713.
1934. — BÜNNING (E.). — Wachstum und Stickstoffassimilation bei *Aspergillus niger* unter dem Einfluss von Wachstumsregulatoren und von Vitamin B. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LII, pp. 423-444.
1934. — CALEF (C.). — Influenza degli estratti di testicolo e prostata sullo sviluppo e fioritura di alcune piante. *Arch. Sc. Biol.*, t. XIX, pp. 414-430.
1920. — CHODAT (R.). — Principes de botanique. 3^e édition. *Baillière*.
1924. — CHOLODNY (N.). — Ueber die hormonale Wirkung der Organspitze bei der geotropischen Krümmung. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XLII, pp. 356-362.
1926. — CHOLODNY (N.). — Beiträge zur Analyse der geotropischen Reaktion. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXV, pp. 447-459.
1928. — CHOLODNY (N.). — Beiträge zur hormonalen Theorie von Tropismen. *Planta*, t. VII, pp. 118-134.
1929. — CHOLODNY (N.). — Ueber das Wachstum des vertikal und horizontal orientierten Stengels in Zusammenhang mit der Frage nach der hormonalen Natur der Tropismen. *Planta*, t. VII, pp. 702-719.
1930. — CHOLODNY (N.). — Mikrophotometrische Untersuchungen über das Wachstum und die Tropismen der Koleoptile von *Avena sativa*. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXIII, p. 720-758.
- 1931 a. — CHOLODNY (N.). — Verwundung, Wachstum und Tropismen. *Planta*, t. XIII, pp. 665-694.
- 1931 b. — CHOLODNY (N.). — Zur Physiologie des pflanzlichen Wuchshormons. *Planta*, t. XIV, pp. 207-216.
1932. — CHOLODNY (N.). — Lichtwachstumsreaktion und phototropismus. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. L, pp. 317-320.
1933. — CHOLODNY (N.). — Zum Problem der Bildung und Physiologischen Wirkung des Wuchshormons bei den Wurzeln. *Ibid.*, t. LI, pp. 85-98.
1934. — CHOLODNY (N.). — Ueber die Bildung und Leitung des Wuchshormons bei den Wurzeln. *Planta*, t. XXI, pp. 517-530.
1935. — CHOLODNY (N.). — Ueber das Keimungshormon von Gramineen. *Planta*, t. XXIII, pp. 289-312.
1936. — CHOLODNY (N.). — Growth hormones and development of plants. *Nature*, t. CXXXVIII, p. 586.
- 1938 a. — CHOUARD (P.). — Production expérimentale de bourgeons sous l'effet d'hétéroauxines. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, p. 1401.
- 1938 b. — CHOUARD (P.). — Formation de poils absorbants sur l'épiderme des feuilles de *Begonia Rex* en rapport avec l'application d'hétéroauxines. *Ibid.*, t. CCVI, p. 1923.
- 1938 c. — CHOUARD (P.). — Sur la nature de l'excitation par les hétéroauxines dans la formation provoquée de racines ou de bourgeons en n'importe quel point de boutures de feuilles. *Ibid.*, t. CCVII, p. 597.
- 1938 d. — CHOUARD (P.). — Sur le rôle des Auxines dans l'organogénèse des plantes vasculaires. *Bull. Soc. Bot. France*, t. LXXXV, pp. 546-555.
1938. — CHOUARD (P.) et CASTAU (R.). — Tubérisation des tiges et hypocotyles par diffusion longitudinale d'hétéroauxine. *Ibid.*, t. CCIV, p. 1211.
1936. — CIFERRI (R.). — Ricerche intorno al potere rizogeno delle tale di manioca. *Atti Ist. bot. Pavia*, sér. 4, t. VII, pp. 265-298.

1935. — CLARK (W. G.). — Note on effect of light on the bioelectric potentials in the *Avena coleoptile*. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXI, pp. 681-684.
1937. — COMBES (R.). — L'enveloppe de la matière vivante. *La vie de la cellule végétale*, t. III. A. Colin, édit., Paris.
1938. — COOPER (W. C.) and WENT (F. W.). — Effect on root formation of retreating cuttings with growth substances. *Science*, t. LXXXVII, p. 390.
1936. — CORDES (H.) und LAIBACH (F.). — Ueber die Abhängigkeit des Wachstums von der Assimilation. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIV, pp. 223-232.
1931. — COURTOIS-DRILHON (A.). — Etudes biochimiques sur la métamorphose des Lépidoptères. *Ann. Physiol. et phys. chim. biol.*, t. VII, pp. 496-636.
1932. — CROCKER (W.), ZIMMERMAN (P. W.) and HITCHCOCK (A. E.). — Ethylene-induced epinasty of leaves and the relation of gravity to it. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, t. IV, pp. 177-218.
1935. — CROCKER (W.), HITCHCOCK (A. E.), ZIMMERMAN (P. W.). — Similarities in the effects of ethylene and the plant auxins. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, t. VII, pp. 231-248.
1937. — CROOK (E. M.), DAVIES (W.) and SMITH (N. E.). — Synthetic Plant growth hormones. *Nature*, t. CXXXIX, pp. 154-155.
1935. — CURTIS (O. F.). — The translocation of solutes in plants. *Mc. Graw. Hill.*, édit. New-York.
1934. — CZAJA (A. Th.). — Der Nachweis des Wuchsstoffes bei Holzpflanzen. *Ber. d. deutsch., Bot. Ges.*, t. LII, pp. 267-271.
- 1935 a. — CZAJA (A. Th.). — Polarität und Wuchsstoff. *Ibid.*, t. LIII, pp. 197-220.
- 1935 b. — CZAJA (A. Th.). — Wurzelwachstum, Wuchsstoff und die Theorie der Wuchsstoffwirkung. *Ibid.*, t. LIII, pp. 221-245.
- 1935 c. — CZAJA (A. Th.). — Die Wirkung des Wuchsstoffes in parallelo-tropen Pflanzenorganen (Eine Entgegnung). *Ibid.*, t. LIII, pp. 478-490.
1935. — DAGYS (J.). — Wuchsstoffe der Mikroorganismen in embryonalen Geweben und im Blutungssafte. *Protoplasma*, t. XXIV, pp. 14-91.
1937. — DAIRES (W.), ATKINS (G. A.) and HUDSON (P. C. B.). — The effect of ascorbic acid and certain indole derivatives on the regeneration and germination of plants. *Ann. of Bot.*, N. S. I., pp. 329-351.
1936. — DAVIES (W.), ATKINS (G. A.) and HUDSON (P. C. B.). — Effect of ascorbic acid and of indolyl acetic on regeneration of willow branches and germination. *Nature*, t. CXXXVII, p. 618.
1935. — DELAUNAY et JAHIEL (R.). — Sur la présence de polypeptides dans la salive humaine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVIII, p. 1418.
1937. — DELISLE (A. F.). — The influence of auxin on secondary branching in two species of *Aster*. *Amer. Journ. Bot.*, t. XXIV, pp. 159-167.
1935. — DENNY (F. E.). — Testing plant tissue for emanations causing leaf epinasty. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, t. VII, pp. 341-347.
1935. — DENNY (F. E.) and MILLER (L. P.). — Production of ethylene by plant tissue as indicated by the epinastic response of leaves. *Ibid.*, t. VII, pp. 97-102.
1933. — DIJKMANN (M. J.) — A quantitative analysis of the geotropical curvature in Dicotyledons. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXVI, pp. 749-758.
1934. — DIJKMANN (M. J.). — Wuchsstoff und geotropische Krümmung bei Lupinus. *Rec. Trav. Bot. néerl.*, t. XXXI, pp. 391-450.

1927. — DILLEWIJN (C. van). — Die Lichtwachstumsreaktionen von Avena. *Rec. trav. Bot. néerl.*, t. XXIV, pp. 307-581.
1935. — DITTMAR (C.). — Ueber die Verteilung der Wuchsstoffe der Bio-Gruppe in normalen tierischen Geweben und in Tumoren. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCLXXIX, pp. 99-105.
1926. — DOLK (H. E.). — Concerning the sensibility of decapitated coleoptiles of Avena sativa for light and gravitation. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXIX, pp. 1113-1117.
1930. — DOLK (H. E.). — Geotropie en groeisto. *Diss. Utrecht. English translation in Rec. trav. Bot. néerl.*, t. XXXIII, pp. 509-585.
1932. — DOLK (H. E.) and THIMANN (K. V.). — Studies on the growth hormone of plants. I. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XVIII, pp. 30-46.
1936. — DOLLFUS (H.). — Wuchsstoffstudien. *Planta*, t. XXV, pp. 1-25.
1938. — DOREMULLER (W.). — Lichtwirkung und Wuchsstoffe in ihrer Bedeutung für die Bewurzelung von Commelinaceen-Stecklingen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXVI, pp. 420-490.
1936. — DOSTAL (R.). — Korrelationswirkung der Speichelorgane und Wuchsstoff. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LIV, pp. 418-429.
1938. — DOSTAL (R.). — Les corrélations et les phytohormones. *Et. et rech. sur les Phytoh. Inst. Intern. de Coop. intell. Soc. des Nat.*, pp. 101-114.
1937. — DOSTAL (R.) and HOSEK (M.). — Ueber den Einfluss von Heteroauxin auf die Morphogenese bei Cirsaea (das Sachs'sche Phäromen. *Flora*, t. CXXXI, N. F. XXXI, pp. 263-286.
1933. — DU BUY (H. G.). — Ueber Wachstum und Phototropismus von Avena sativa. *Rec. trav. Bot. néerl.*, t. XXX, pp. 798-925.
1934. — DU BUY (H. G.). — Der Phototropismus der Avena koleoptile und die Lichtabfallstheorie. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LII, pp. 530-559.
1936. — DU BUY (H. G.). — The change in the response of Avena coleoptiles to growth regulators produced by aging. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXII, pp. 272-275.
1929. — DU BUY (H. G.) and NUERNBERGK (E.). — Weitere untersuchungen über den Einfluss des Lichtes auf das Wachstum von koleoptile und Mesokotyl bei Avena sativa II. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXII, pp. 808-817.
1938. — DU BUY (H. G.) and OLSON (R. A.). — Protoplasmic streaming, electric potentials and growth in coleoptiles of Triticum and Avena. *Science*, t. LXXXVII, p. 490.
1937. — DUFRÉNOY (J.). — Les Phytohormones. *Extrait des Ann. agron.*, 41 p.
1939. — DUHAMET (L.). — L'action de l'hétéroauxine sur la croissance de racines isolées de *Lupinus albus*. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVIII, n° 23, p. 1838.
1934. — DUROUSSEAU-DUGONTIER (R.). — Technique de préparation et utilisation en chirurgie des larves de *Lucilia sericata*. *Thèse médecine, Paris*.
1936. — EBSTER (H.). — Die Wirkung von Alphastrahlung auf das Streckenwachstum. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIII, pp. 423-438.
1937. — ENGLISH (J.) and BONNER (J.). — The wound hormones of plants. I. Traumatol, the active principle of the bean test. *Journ. of Biol. Chem.*, t. CXI, pp. 791-799.
1935. — ERKELEBEN (H.). — Ueber die Chemie und Physiologie der Auxine. *Ergeb. Physiol. exp. Pharmacie*, t. XXXVII, pp. 186-209.
1932. — EVANS (A. C.). — Some aspects of chemical changes during Insect metamorphosis. *Journ. Exp. Biol.*, t. IX, pp. 314-321.

1936. — FABER (E. R.). — Wuchsstoffversuche an Keimwurzeln. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIII, pp. 439-469.
1937. — FABRE (R.). — Les hormones végétales. *Journées médic. de Paris inter. Baillière Ed.*.
1925. — FAURÉ-FREMIET. — La cinétique du développement. *Presses univ. de France*.
1935. — FAULT (P.) und WEINMANN (J.). — Die proteolytische Fähigkeit des Speichels. I Die Eigenproteolyse des Speichels. II. Das Verhalten menschlichen Speichels gegenüber Eiweisskörpern. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCLXXXI, pp. 37-48.
1936. — FIEDLER (H.). — Entwicklungs- und reiz-physiologische Untersuchungen an Kulturen isolierter Wurzelspitzen. *Zeitschr. f. Botan.*, t. XXX, pp. 385-436.
1929. — FISCHER (A.). — Die Krebszelle. *Naturwiss.*, t. XVII, p. 157.
1935. — FISCHNICH (O.). — Ueber den Einfluss von β -indolylessigsäure auf die Blattbewegungen und die Adventivwurzelbildung von *Coleus*. *Planta*, t. XXIV, pp. 552-583.
1937. — FISCHNICH (O.). — Ueber die stofflichen Grundlagen der Wurzelbildung. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LV, pp. 279-287.
1938. — FISCHNICH (O.). — Die Rolle des Wuchsstoffes bei der Bildung von Adventivsprossen und-wurzeln. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LVI, pp. 144-152.
1907. — FITTING (H.). — Die Leitung tropistischer Reize in parallelotropen Pflanzenteilen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. XLIV, pp. 177-253.
1936. — FITTING (H.). — Die Hormone als physiologische Reizstoffe. *Biol. Zentralbl.*, t. LVI, pp. 69-86.
1937. — FITTING. — Beiträge zur Physiologie der Protoplasmaströmung in den Blättern von *Vallisneria spiralis*. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LV, pp. 255-261.
1932. — FLIRY (M.). — Zur Wirkung der Endknospe auf die Hypokotylstreckung des Dikotylenkeimlings. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXVII, pp. 150-184.
1936. — FREY-WYSSLING (A.). — Der Aufbau der pflanzlichen Zellwände. *Protoplasma*, t. XXV, pp. 261-300.
1935. — GAUTHERET (R. J.). — Recherches sur la culture des tissus végétaux. Essais de cultures de quelques tissus méristématiques. *Thèse, Doct. Sc. nat. Paris*, p. 280.
1938. — GAUTHERET (R. J.). — Sur le repiquage des cultures de tissu cambial de *Salix caprea*. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, p. 125.
- 1939 a. — GAUTHERET (R. J.). — Action de l'acide indol- β -acétique sur les tissus du tubercule de carotte. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, pp. 7-9.
- 1939 b. — GAUTHERET (R. J.). — Sur le développement de fragments de tubercules de chou-rave. *Ibid.*, t. CXXX, pp. 244-247.
1937. — GARDNER (F. E.) and MARTIN (P. C.). — Parthenocarpic fruits induced by spraying with growth-promoting chemicals. *Science*, t. LXXXVI, p. 246.
- 1936 a. — GEIGER-HUBER (M.). — Der Einfluss des Wuchshormons (heteroauxin) auf das Wurzelwachstum. *Act. Soc. helv. Sc. nat. Soleure*, p. 313.
- 1936 b. — GEIGER-HUBER und BURLET (E.). — Ueber den hormonalen Einfluss der β -indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in Keimfreier Organkultur. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIV, pp. 233-253.
1939. — GEORGI (C. E.) and BEGUIN (A. E.). — Heteroauxin Production, by

- Efficient and Inefficient strains of Rhizobia. *Nature*, vol. CXLIII, p. 25, no 3610.
1934. — GESSNER (F.). — Wachstum und Wanddehnbarkeit am Helianthus Hypokotyl. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXX, p. 143-168.
1936. — GLOVER (J.). — Skatole as a growth-promoting substance. *Nature*, t. CXXXVII, p. 320.
1938. — GOLDBERG (E.). — Root and shoot production induced in cabbage by beta (3) indole-acetic acid. *Science*, t. LXXXVII, p. 511.
1927. — GORTER (C. J.). — On the occurrence of growth-accelerating and growth-retarding substances. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXX, pp. 728-733.
1935. — GOUWENTAK (C. A.) and HELLINGA (G.). — Beobachtungen über Wurzelbildung. *Med. Landbouwhoogeschool Wageningen*, t. XXXIX, pp. 1-6.
1938. — GRACE (N. H.). — Physiological curve of response to plant growth hormones. *Nature*, t. CXXLI, p. 35.
1925. — GRADMANN (H.). — Untersuchungen über geotropische Reizstoffe. *Jahrb. wiss. Bot.*, t. LXIV, pp. 201-248.
1928. — GRADMANN (H.). — Die Lateralwirkung bei den Windepflanzen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXVIII, pp. 46-78.
1930. — GRADMANN (H.). — Die tropistischen Krümmungen als Auswirkungen eines gestörten Gleichgewichtes. *Ibid.*, t. LXX, pp. 513-610.
1936. — GRAZE (H.) und SCHLENKER (G.). — Versuche zur Klärung der reziproken Verschiedenheiten von Epilobium-Bastarden. III. Vergleichende Untersuchungen über den Wuchsstoffgehalt bei verschiedenen Biotypen von Epilobium hirsutum. *Ibid.*, t. LXXXII, pp. 687-695.
1937. — GREENLEAF (W. H.). — Induction of polyploidy in Nicotiana. *Science*, t. LXXXVI, p. 565.
1936. — GRIEVE (B. J.). — Spotted Wilt virus and the hormone heteroauxin. *Nature*, t. CXXXVIII, p. 128.
1936. — GUSTAFSON (F. G.). — Inducement of fruit development by growth promoting chemicals. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXII, pp. 628-636.
1937. — GUSTAFSON (F. G.). — Parthenocarpy induced by pollen extracts. *Amer. Journ. Bot.*, t. XXIV, pp. 102-107.
1933. — GUTTENBERG (H. von). — Reizperzeption und Wuchsstoffwirkung. *Planta*, t. XX, pp. 230-232.
1935. — HAAGEN-SMIT (A. J.) and WENT (F. W.). — A physiological analysis of the growth substance. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXVIII, pp. 852-857.
1930. — HEYN (A. N. J.). — On the relation between growth and extensibility of the cell wall. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXIII, pp. 1045-1058.
1931. — HEYN (A. N. J.). — Further experiments on the mechanism of growth. *Ibid.*, t. XXXIV, pp. 474-484.
- 1932 a. — HEYN (A. N. J.). — Recherches sur les relations de la plasticité des membranes cellulaires et de la croissance des végétaux. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXCLV, pp. 1848-1850.
- 1932 b. — HEYN (A. N. J.). — Sur la méthode de détermination de plasticité des membranes cellulaires. *Ibid.*, t. CXCV, pp. 494-496.
1933. — HEYN (A. N. J.). — Further investigations on the mechanism of cell

- elongation and the properties of the cell wall in connection with elongation. I. The load extension relationship. *Protoplasma*, t. XIX, pp. 78-96.
- 1934 a. — HEYN (A. N. J.). — Die Plastizität der Zellmembran unter Einfluss von Wuchsstoff. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXVII, pp. 180-182.
- 1934 b. — HEYN (A. N. J.). — Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Zellstreckung und die Eigenschaften der Zellmembran. II. Das Röntgendiagramm von jungen wachsenden Zellwänden und parenchymatischen Geweben. *Protoplasma*, t. XXI, pp. 299-305.
1935. — HEYN (A. N. J.). — The chemical nature of some growth hormones as determined by the diffusion method. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXIII, pp. 1074-1081.
1935. — HITCHCOCK (A. E.). — Tobacco as a test plant for comparing the effectiveness of preparations containing growth substances. *Contrib. Boyce Thomson Inst.*, t. VII, pp. 349-364.
1935. — HITCHCOCK and ZIMMERMAN (P. W.). — Absorption and movement of synthetic growth substances from soil as indicated by the responses of aerial parts. *Ibid.*, t. VII, pp. 447-476.
1936. — HITCHCOCK and ZIMMERMAN (P. W.). — Effect of growth substances on the rooting response of cuttings. *Ibid.*, t. VIII, pp. 63-79.
1937. — HOFNER (A.). — Wuchsstoffuntersuchungen an Keimlingen von *Agrostemma Githago*. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXV, pp. 485-505.
1937. — HOMÈS (M.) et SCHOOR (G. van). — La présence de substances de croissance chez *Elodea canadensis*. *Ac. roy. Belg. Bull. cl. de Sc.* (5), t. XXIII, pp. 183-193.
1938. — JACKSON (T. H.). — Absorption of growth-promoting substances by cuttings. *Nature*, t. CCLI, p. 835.
1937. — JAHNEL (H.). — Ueber den Wuchsstoff in *Lupinus albus* und seine Verteilung während einer Vegetationsperiode. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXV, pp. 329-354.
1936. — JANOT (M. M.). — Les hormones de croissance chez les végétaux. Conférence faite devant la société de chimie biologique le 21 avril 1936. *Bull. Soc. chim. biol.*, pp. 1741-1768.
- 1937 a. — JANOT (M. M.). — Phénomènes de croissance provoqués, chez les végétaux, à la suite d'injections d'hétéroauxine (acide indol- β -acétique). *C. R. Acad. Sc.*, t. CCIV, p. 1358.
- 1937 b. — JANOT (M. M.). — Les hormones de croissance chez les végétaux. *Rev. Ass. franç. Avanc. Sciences*, n° 12, p. 175.
1926. — JEZEWSKA (M.). — Les changements de la teneur en tryptophane au cours du développement des chrysalides de mouches. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCV, p. 910.
- 1935 a. — JOST (L.). — Ueber Wuchsstoffe. *Zeitschr. f. Bot.*, t. XXVIII, pp. 260-274.
- 1935 b. — JOST (L.). — Wuchsstoff und Zellteilung. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. LIII, pp. 733-750.
1937. — JOST (L.). — Ueber Wuchsstoffe. 2, Zusammenfassender Bericht. *Zeitschr. f. Botan.*, t. XXXI, pp. 95-121.
1936. — JOST (L.) und REISS (E.). — Zur Physiologie der Wuchsstoffe. II. Einfluss des Heteroauxins auf Längen- und Dickenwachstum. *Zeitschr. f. Bot.*, t. XXX, pp. 335-376.
1937. — JOST (L.) und REISS (E.). — Zur Physiologie der Wuchsstoffe. III. *Zeitschr. f. Bot.*, t. XXXI, pp. 65-94.

1935. — KEEBLE (F.) and NELSON (M. G.). — The integration of plant behaviour. V. Growth substance and traumatic curvature of the root. *Proc. Roy. Soc., B*, t. CXVII, pp. 92-119.
1929. — KEEBLE (F.), NELSON (M. G.) and SNOW (R.). — The integration of Plant Behavior. I. Separate Geotropic Stimulations of Tip and Stump in Roots. *Ibid.*, B, t. CV, pp. 493-498.
1931. — KEEBLE (F.), NELSON (M. G.) and SNOW (R.). — Integration of Plant Behavior. IV. Geotropism and Growth substance. *Ibid.*, B, t. CVIII, pp. 537-545.
1934. — KOCH (K.). — Untersuchungen über den Quer- und Längstransport des Wuchsstoffes in Pflanzenorganen. *Planta*, t. XXII, pp. 1-33.
1937. — KOEPLI (J. B.), THIMANN (E. V.) and WENT (F. W.). — Phytohormones : structure and physiological activity. I. *The Journ. Biol. Chem.*, t. CXXII, n° 3, pp. 763-780.
1932. — KÖGL (F.). — Ueber die Chemie des Auxins, eines pflanzlichen Wuchsstoffes. *Chem. Weekblad*, t. XXIX, pp. 317-318.
- 1933 a. — KögZ (F.). — Ueber Auxine. *Zeitschr. Angew. Chem.*, t. XCVI, pp. 469-484.
- 1933 b. — KögZ (F.). — Die Chemie des Auxins und sein Vorkommen im Pflanzen- und Tierreich. *Naturwiss.*, t. XXI, pp. 17-21.
- 1933 c. — KÖGL (F.). — On plant growth hormones (Auxin A and Auxin B). *Rep. British Assoc.*, pp. 600-609.
- 1935 a. — KÖGL (F.). — Ueber Wuchsstoffe der Auxin- und der Bios-Gruppe. *Ber. d. deutsch. Chem. Ges.*, t. LXVIII, pp. 16-28.
- 1935 b. — KÖGL (F.). — Untersuchungen über pflanzliche Wuchsstoffe. *Naturwiss.*, t. XXIII, pp. 839-843.
1937. — KÖGL (F.). — Discussion on growth factors. *Proc. of Roy. Soc. London*, ser. B, t. CXXIV, pp. 1-5.
1938. — KÖGL (F.). — Chimie des phytohormones et autres substances de croissance des plantes. *Et. et Rech. sur les Phytoh. Inst. Intern. de Coop. intell. Soc. des Nat.*, p. 1-12.
1934. — KÖGL (F.) und ERXLEBEN (H.). — Ueber die Konstitution der Auxine a und b. X. Mitteilung über pflanzliche Wachstumsstoffe. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. CCXXVII, pp. 51-73.
1935. — KÖGL (F.) und ERXLEBEN (H.). — Synthese der « Auxin-glutarsäure » und einiger Isomere. XV. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXXV, pp. 181-200.
1937. — KÖGL (F.) und FRIES (N.). — Ueber den Einfluss von Biotin, Aneurin und Meso-Inosit auf das Wachstum verschiedener Pilzarten. XXVI. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXLIX, pp. 93-110.
1933. — KÖGL (F.), ERXLEBEN (H.) und HAAGEN-SMIT (A. J.). — Ueber ein Phytohormon der Zellstreckung. Zur Chemie des kristallisierten Auxins. V. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXVI, pp. 31-44.
1934. — KÖGL (F.), ERXLEBEN (H.) und HAAGEN-SMIT (A. J.). — Ueber die Isolierung der Auxin a und b aus pflanzlichen Materialien. IX. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXXV, pp. 215-229.
1936. — KÖGL (F.) und HAAGEN-SMIT (A. J.). — Biotin und Aneurin als Phytohormone. Ein Beitrag zur Physiologie der Keimung. XXIII. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXLIII, pp. 209-226.
- 1933 a. — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) und ERXLEBEN (H.). — Ueber ein Phytohormon der Zellstreckung. Reindarstellung des Auxins aus menschlichem Harn. IV. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXIV, pp. 241-261.

- 1933 b. — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) und ERXLEBEN (H.). — Studien über das Vorkommen von Auxinen im menschlichen und im tierischen Organismus. VII. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXX, pp. 137-161.
- 1934 a. — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) und ERXLEBEN (H.). — Ueber ein neues Auxin « Heteroauxin » aus Harn. XI. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXXVIII, pp. 90-103.
- 1934 b. — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) und ERXLEBEN (H.). — Ueber den Einfluss der Auxine auf das Wurzelwachstum und über die chemische Natur des Auxins der Graskoleoptilen. XII. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXXVIII, pp. 104-112.
1936. — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) und HULSSEN (G. J. van). — Ueber den Einfluss unbekannter äusserer Faktoren bei Versuchen mit *Avena sativa*. XIX. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXLI, pp. 17-33.
1933. — KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) und TÖNNIS (B.). — Ueber das Vorkommen von Auxinen und von Wachstumsstoffen der « Bios »-Gruppe in Carcinomen. VIII. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXX, pp. 162-172.
- 1936 a. — KÖGL (F.) und HASSELT (W. van). — Isolierung von Bios I (Mesoinosit) aus Hefe. *Ibid.*, t. CCXLII, pp. 75-80.
- 1936 b. — KÖGL (F.) und HASSELT (W. van). — Ueber das Vorkommen von Biotin im tierischen Organismus. XXII. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXLIII, pp. 189-194.
1934. — KÖGL (F.) und KOSTERMANS (D. G. F. R.). — Hetero-auxin als Stoffwechselprodukt niederer pflanzlicher Organismen. Isolierung aus Hefe. XIII. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXXVIII, pp. 113-121.
1935. — KÖGL (F.) und KOSTERMANS (D. G. F. R.). — Ueber die Konstitutionspezifität des Heteroauxins. XVI. Mitteilung. *Ibid.*, t. CCXXXV, p. 201-216.
1936. — KÖGL (F.) und TÖNNIS (B.). — Ueber das Bios-problem. Darstellung von kristallisiertem Biotin aus Eigelb. *Ibid.*, t. CCXLII, pp. 43-73.
1936. — KOHLER (G. O.), ELVEHYEM (C. A.) and HART (E. B.). — Growth stimulating properties of grass juice. *Science*, t. LXXXIII, p. 445.
1936. — KONINGSBERGER (C.). — De auto-inactiveering der Auxinen (Diss. Utrecht).
1938. — KONINGSBERGER (V. J.). — Le problème des phytohormones et le métabolisme. *Et. et Rech. sur les Phytoh. Inst. Intern. de Coop. Intell. Soc. des Nat.*, pp. 37-48.
1935. — KORNMAN (P.). — Die Aufhebung der Wuchsstoffwirkung durch lebende Pflanzenteile. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LIII, pp. 523-527.
1934. — KROPP (B.) and CROZIER (W. J.). — The production of the crustacean chromatophore activator. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, t. XX, pp. 453-456.
1934. — LAAN (P. A. Van der). — Der Einfluss von Äthylen auf die Wuchsstoffbildung bei *Avena* und *Vicia*. *Rec. trav. bot. néerl.*, t. XXXI, pp. 691-742.
1853. — LACAZE-DUTHIERS (DE). — Recherches pour servir à l'histoire des Galles. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 3^e sér., t. XIX.
1932. — LAIBACH (F.). — Pollenhormon und Wuchsstoff. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. L, pp. 383-390.
- 1933 a. — LAIBACH (F.). — Wuchsstoffversuche mit lebenden Orchideenpollinien. *Ibid.*, t. LI, pp. 336-340.
- 1933 b. — LAIBACH (F.). — Versuche mit Wuchsstoffpaste. *Ibid.*, t. LI, pp. 386-392.

1935. — LAIBACH (F.). — Ueber die Auslösung von Kallus- und Wurzelbildung durch β -Indolyllessigsäure. *Ibid.*, t. LIII, pp. 359-364.
1936. — LAIBACH (F.). — Ueber den Einfluss des Lichtes auf das Reaktionsvermögen der Pflanze gegenüber Wuchsstoff. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIII, pp. 324-339.
1937. — LAIBACH (F.). — Ueber die Bedeutung der β -Indolyllessigsäure für die Stecklingsvermehrung. *Die Gartenbauwiss.*, t. XI, pp. 65-79.
1938. — LAIBACH (F.). — Zur Frage der Inaktivierung des Wuchsstoffes durch Licht. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. LVI, pp. 298-306.
- 1935 a. — LAIBACH (F.) und FISCHNICH (O.). — Künstliche Wurzelneubildung mittels Wuchsstoffpaste. *Ibid.*, t. LIII, pp. 528-539.
- 1935 b. — LAIBACH (F.) und FISCHNICH (O.). — Ueber eine Testmethode zur Prüfung der kallusbildenden Wirkung von Wuchsstoffpasten. *Ibid.*, t. LIII, pp. 469-477.
1936. — LAIBACH (F.) und FISCHNICH (O.). — Die Wuchsstoffleitung in der Pflanze. I. *Planta*, t. XXV, pp. 648-659.
1938. — LAIBACH (F.) und FISCHNICH (O.). — Weitere Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Streckungswachstum und Assimilation. *Jahrb. f. wiss. bot.*, t. LXXXVI, pp. 33-49.
- 1933 a. — LAIBACH (F.) und KORNMANN (P.). — Zur Methodik der Wuchsstoffversuche. *Planta*, t. XIX, pp. 482-484.
- 1933 b. — LAIBACH (F.) und KORNMANN (P.). — Zur Frage des Wuchsstofftransportes in der Haferkoleoptile. *Ibid.*, t. XXI, pp. 396-418.
1936. — LAIBACH (F.) und LOTZ (R.). — Methodisches zur Wuchsstoffuntersuchung. *Bioch. Zeitschr.*, t. CCLXXXVIII, pp. 250-252.
1934. — LAIBACH (F.), MAI (G.) und MÜLLER (A.). — Ueber ein Zellteilungshormon. *Naturwiss.*, t. XXII, p. 288.
1933. — LAIBACH (F.) und MASCHMANN (E.). — Ueber den Wuchsstoff der Orchideenpollinien. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXVIII, pp. 399-430.
1935. — LAIBACH (F.) und MEYER (F.). — Über die Schwankungen des Auxingehaltes bei *Zea Mays* und *Helianthus annuus* im Verlauf der Ontogenese. *Senckenbergiana*, t. XVII, p. 73-86.
1934. — LAIBACH (F.), MÜLLER (A.) und SCHAEFER (W.). — Ueber wurzelbildende Stoffe. *Naturwiss.*, t. XXII, pp. 588-589.
1937. — LAIRD (D. G.) and WEST (P. M.). — The influence of Bios on nodule bacteria and legumes. A. The influence of Bios on legume seedlings. *Canadian J. of Research*, t. XV, pp. 1-6.
1936. — LANE (R. H.). — The inhibition of roots by growth hormone. *Amer. Journ. Bot.*, t. XXIII, pp. 532-535.
1927. — LANGE (S.). — Die Verteilung der Lichtempfindlichkeit in der Spitze der Haferkoleoptile. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXVII, pp. 1-51.
1933. — LANGE (S.). — Die Dorsiventralitätskrümmungen der Haferkeimlinge. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXVIII, pp. 157-202.
1936. — LARSEN (P.). — Ueber einen wuchsstoffinaktivierenden Stoff aus Phaseolus-Keimpflanzen. *Planta*, XXV, pp. 311-314.
1933. — LA RUE (C. D.). — Intumescences on poplar leaves. I and II. *Americ. Journ. Bot.*, t. XX, pp. 1-17 and 159-175.
1935. — LA RUE (C. D.). — The rôle of auxin in the development of intumescences on poplar leaves; in the production of cell outgrowths in the tunnels of leaf-miners; in the leaf-fall in Coleus. *Ibid.*, t. XXII, p. 908.

1936. — a) LA RUE (C. D.). — Tissue cultures of spermatophytes. *Proc. nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXII, pp. 201-209.
1936. — b) LA RUE (C. D.). — Intumescences on poplar leaves. III. The rôle of plant growth hormones in their production. *Americ. Journ. Bot.*, t. XXIII, pp. 520-524.
1936. — c) LA RUE (C. D.). — The effect of auxin on the abscission of petioles. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXII, pp. 254-259.
1936. — LE FANU (B.). — Auxin and correlative inhibition. *New. Phytol.*, t. XXXV, p. 205-220.
1938. — LEFÈVRE (J.). — Sur la présence normale d'acides indoliques et particulièrement de l'acide indol-3-acétique dans diverses plantes supérieures. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, p. 1675.
1939. — LEFÈVRE (J.). — Observations sur la teneur de divers organes végétaux en acide indol-3-acétique. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, pp. 225-227.
1936. — LEHMANN (E.). — Versuche zur Klärung der reziproken Verschiedenheiten von *Epilobium*-Bastarden. I. Der Tatbestand und die Möglichkeit seiner Klärung durch differente Wuchsstoffbildung. *Jahrb. wiss. Bot.*, t. LXXXII, pp. 657-668.
1937. — LEK (H. A. A. VAN DER). — Over de wortelvorming van houtige. *Stekkea* (With summary : Root development in woody cuttings). *Diss. Utrecht*.
1936. — LINK (G. K. K.). — Rôle of heteroauxines in legume nodule formation, beneficial host effects of nodules and soil fertility. *Nature*, t. CXL, p. 507.
1936. — LOEWING (W. F.) and BAUGUETT (L. G.). — Plant growth effects of heteroauxin applied to soil and plants. *Science*, t. LXXXIV, pp. 46-47.
1935. — LOOMIS (W. E.). — Translocation and growth balance in woody plants. *Ann. of Bot.*, t. XLIX, pp. 247-272.
1938. — LUSTIG (B.) und WACHTEL (H.). — Ueber biochemische Beeinflussung der Keimung und des Wachstums der Cardaminesamen. II. Wirkungen von Vitaminen und Hormonen auf die Pflanze. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCXCVII, pp. 386-394.
1934. — MAI (G.). — Korrelationsuntersuchungen an entspreiteten Blattstielen mittels lebender Orchideenpollinien als Wuchsstoffquelle. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXIX, p. 681-713.
1934. — MALOWAN (S.). — Wuchsstoffe und Pflanzenwachstum. *Protoplasma*, t. XXI, pp. 306-322.
1935. — MARTIN DU PAN (R.) et RAMSEYER (M.). — Recherches sur l'influence des hormones de croissance végétales sur le développement du germe de batraciens. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIX, pp. 1236-1237.
1932. — MASCHMANN (E.). — Der Wuchsstoff bösartiger Geschwülste. *Naturwiss.*, t. XX, pp. 721-722.
1932. — MASCHMANN (E.) und LAIBACH (F.). — Ueber Wuchsstoffe. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCLV, pp. 446-452.
1933. — MASCHMANN (E.) und LAIBACH (F.). — Das Vorkommen von Wuchsstoff in tierischem und pflanzlichem Material. *Naturwiss.*, t. XXI, p. 517.
1934. — MAURICE (A.). — La *Lucilia sericata* en thérapeutique. Larves vivantes. Sucs extraits de larves. *Th. méd. Paris*.
1934. — METZNER (P.). — Zur Kenntnis der Stoffwechseländerungen bei geotropisch gereizten Keimpflanzen. *Ibid.*, t. LII, pp. 506-522.
1936. — METZNER (P.). — Zur Kenntnis der Stoffwechseländerungen bei einsei-

- tigbelichteten Keimpflanzen. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LIV, pp. 455-471.
1936. — MEYER (F.). — Ueber die Verteilung des Wuchsstoffes in der Pflanze während ihrer Entwicklung. *Diss. Frankfurt*.
1935. — MICHENER (H. D.). — Effects of ethylene on plant growth hormone. *Science*, t. LXXXII, p. 551.
1928. — MOISSEJEW (M.). — Zur Frage nach den Wuchshormonen des Getreides. *Bull. Jard. Bot. Kieff*, 7/8, pp. 1-16.
1916. — MOLLIARD (M.). — Notice sur les travaux scientifiques de M. Marie Molliard. *Boulogne, Impr. Nemours*, 152 p.
1935. — MOLLIARD (M.). — Action du CO² sur l'élongation des cellules. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIX, p. 347.
1935. — MÜLLER (A. M.). — Ueber den Einfluss von Wuchsstoff auf das Austreiben der Seitenknospen und auf die Wurzelbildung. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXI, pp. 497-540.
1936. — NAGAO (M.). — Studies on the growth hormones of plants. I. The production of growth substance in root tips. *Sc. Rep. Tohoku Imp. Univers. Sendai*, t. X, pp. 721-731.
- 1933 a. — NAVEZ (A. E.). — « Growth-promoting substance » and elongation of roots. *Journ. gen. Physiol.*, t. XVI, p. 733-739.
- 1933 b. — NAVEZ (A. E.). — Growth-promoting substance and illumination. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, t. XIX, pp. 636-638.
1934. — NAVEZ (A. E.) and KROPP (B.). — The growth-promoting action of crustacean eye-stalk extract. *Biol. Bull.*, t. LXVII, pp. 250-258.
1931. — NEEDHAM (J.). — Chemical Embryology. 3 t., *Cambridge Press, ed.*
1934. — NEEDHAM (J.), WADDINGTON (C. H.) and NEEDHAM (D. M.). — Physico-chemical experiments on the amphibian organiser. *Arch. f. exper. Zell.*, t. XV, pp. 307-310.
1930. — NĚMEC (B.). — Bakterielle Wuchsstoffe. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XLVIII, pp. 72-74.
1925. — NIELSEN (N.). — Studies on the transmission of stimuli in the coleoptile of *Avena*. *Dank. bot. arkiv.*, 4 nr. 8.
1930. — NIELSEN (B.). — Untersuchungen über einen neuen wachstumregulierenden Stoff: Rhizopin. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXIII, pp. 125-191.
1931. — NIELSEN (B.). — The effect of rhizopin on the production of matter of *Aspergillus niger*. *C. R. Lab. Carlsberg, ser. physiol.*, t. XIX, n° 5, pp. 1-10.
1936. — NIELSEN (N.). — Der Wuchsstoffgehalt von Samen verschiedenen Alters. *Ibid.*, t. XXI, pp. 427-436.
1938. — NIELSEN (N.). — Les phytohormones dans les différents groupes de plantes. *Et. et Rech. sur les Phytoh. Inst. intern. de Coop. Intell. Soc. des Nat.*, pp. 17-35.
1937. — NIELSEN (N.) und FANG. — Vergleichende Untersuchungen über Wuchsstoffwirkung auf verschiedene Arten von Hefe und Schimmelpilzen. *C. R. Trav. Lab. Carlsberg, ser. physiol.*, t. XXIII, pp. 141-154.
1932. — NIELSEN (N.) and HARTELIUS (V.). — The separation of growth-promoting substances. *Ibid.*, t. XIX, n° 8, pp. 1-17.
1936. — NIELSEN (N.) and HARTELIUS (V.). — Chemistry of growth substance B. *Nature*, t. CXXXVIII, p. 203.
1937. — NIELSEN (N.) and HARTELIUS (V.). — Ueber die Trennung der auf die

- Stoffproduktion der Hefe und Schimmelpilzen einwirkenden Wuchsstoffe. *C. R. Trav. lab. Carlsberg, ser. physiol.*, t. XXII, pp. 1-22.
- 1938 a. — NIELSEN (N.) and HARTELIUS (V.). — Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren. I. Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren gegenüber Hefe. *Ibid.*, t. XXII, pp. 249-266.
- 1938 b. — NIELSEN (N.) and HARTELIUS (V.). — Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren gegenüber Hefe. *Biochem. Zeitschr.*, t. CCXCV, pp. 211-225.
1933. — NUERNBERGK (E.). — Ueber den Auxin-Quertransport und den Geotropismus der Avena-koleoptile: Einfluss der Dekapitation. *Flora*, t. CXXVIII, pp. 99-110.
1923. — ODIETTE (D.). — Influence de quelques acides aminés sur la genèse des éléments élastiques dans les cultures de tissus *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, t. CX, pp. 940-941.
1934. — OVERBEEK (F.). — Beiträge zur Kenntniss der Zellstreckung. Untersuchungen am Sporogonstiel von *Pellia epiphylla*. *Zeitschr. f. Bot.*, t. XXVII, pp. 129-170.
1935. — OVERBEEK (J. VAN). — The growth hormone and the dwarf type of growth in corn. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXI, pp. 292-299.
1936. — OVERBEEK (J. VAN). — Different action of auxin A and of heteroauxin. (Preliminary note). *Ibid.*, t. XXII, pp. 187-190.
1937. — OVERBEEK (J. VAN). — Effect of the roots on the production of auxin by coleoptile. *Ibid.*, t. XXXIII, pp. 272-276.
1938. — OVERBEEK (J. VAN). — A simplified method for auxin extraction. *Ibid.*, t. XXIV, p. 43.
1938. — OVERBEEK (J. VAN) and BONNER (J.). — Auxin in isolated Roots-Growing *in vitro*. *Ibid.*, t. XXIV, pp. 260-264.
1914. — PAÁL (A.). — Ueber phototropische Reizleitungen. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. XXXII, pp. 499-502.
1919. — PAÁL (A.). — Ueber phototropische Reizleitung. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LVIII, pp. 406-458.
1937. — PEARSE (H. L.). — Effect of heteroauxin on the growth of broad bean plants in water-culture. *Nature*, t. CXL, p. 26.
1920. — PÉREZ (C.). — La différenciation des cellules. *Congrès Associat. franç. Avanc. Sc. Strasbourg*, pp. 313-316.
1932. — PERRY (J.). — A possible hormone-secreting region in the grass coleoptile. *Science*, t. LXXVI, pp. 215-216.
1938. — PFAHLER (F.). — Versuche über die Wirkung zusätzlicher Auxin (heteroauxin)-gaben auf das Wachstum intakter Pflanzen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXVI, pp. 675-719.
1926. — PISEK (A.). — Untersuchungen über den Autotropismus der Haferkoleoptile bei Lichtkrümmung, über Reizleitung und den Zusammenhang zwischen Lichtwachstumsreaktion und Phototropismus. *Ibid.*, t. LXV, pp. 460-501.
1936. — PLCH (B.). — Ueber den Einfluss einiger Phytohormone auf die Korrelationswirkung der Keimblätter von *Pisum sativum*. *Beih. bot. Centr.*, t. LV, Abt A, pp. 358-415.
1935. — POHL (R.). — Ueber den Endospermwuchsstoff und die Wuchsstoffproduktion der Koleoptilspitze. *Planta*, t. XXIV, pp. 523-526.
1936. — POHL (R.). — Die Abhängigkeit des Wachstums der Avena-koleoptile

- und ihrer sogenannten Wuchsstoff-produktion von Auxingehalt des Endosperms. *Ibid.*, t. XXV, pp. 720-750.
1937. — POHL (R.). — Das zonale Wachstum der Avena-koleoptile unter dem Einfluss von künstlich zugeführtem Wuchsstoff. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LV, pp. 342-354.
1933. — POPOFF (M.). — Ueber die pflanzlichen Auxine und ihre Wirkung auf Einzellige. *Biol. Zentralbl.*, t. LIII, pp. 661-668.
1930. — PRIESTLEY (J. H.). — Studies in the physiology of cambial activity, III. The seasonal activity of the cambium. *New. Phytolog.*, t. XXIX, pp. 316-354.
1936. — RAALTE (M. H. VAN). — On the influence of glucose on auxin production by the root tip of *Vicia faba*. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXIX, pp. 261-265.
1937. — RAMSEYER (M.) et MARTIN DU PAN (R.). — Recherches concernant l'influence des auxines, phytohormones de croissance, sur les cultures de fibroblastes de poulet. *Arch. f. experiment. Zellf. Bd.*, t. XX, H2, pp. 117-121.
1934. — RAMSHORN (K.). — Experimentelle Beiträge zur elektrophysiologischen Wachstumstheorie. *Planta*, t. XXII, pp. 737-766.
1934. REINHARD (A. W.) und BRO (L.). — Zur Frage der Leitung des phototropischen Reizes. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXIX, pp. 1-8.
1937. — ROBINSON (T. W.) and WOODSIDE (G. L.). — Auxin in the chick embryo. I. Its presence and the change in concentration with age. *Journ. Cell. and. Comp. Physiol.*, t. IX, fasc. 2, pp. 241-260.
1929. — ROSE (M.). — La Question des Tropismes. *Presses universitaires de France*.
1935. — ROSE (M.) et BERRIER (H.). — Sur l'apparition de substances fonctionnant comme les auxines végétales, au cours du développement du *Discoglossus pictus* Oth. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCL, pp. 357-359.
1936. — ROSE (M.) et BERRIER (H.). — Sur la répartition topographique de substances fonctionnant comme les auxines végétales chez le jeune têtard de *Discoglossus pictus* Oth. *Ibid.*, t. CCIII, pp. 496-498.
1937. — RUGE (U.). — Untersuchungen über den Einfluss des Heteroauxins auf das Streckungswachstum des Hypokotyls von *Helianthus annuus*. *Zeitschr. f. Bot.*, t. XXXI, pp. 1-56.
1938. — RUGE (U.). — Ueber das Appositionswachstum decapitierter Hypokotyle von *Helianthus annuus*. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. LVI, pp. 165-176.
1937. — SCHLENKER (G.). — Die Wuchsstoffe der Pflanzen. *Lehmanns Verlag, München Berlin*.
1936. SCHLENKER (G.) und MITTMANN (G.). — Versuche zur Klärung der reziproken Verschiedenheiten von *Epilobium*-Bastarden. IV. Internodienwachstum und Zellstreckung bei *Epilobium hirsutum* unter dem Einfluss synthetischer β -Indolylessigsäure. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXXIII, pp. 315-323.
1933. — SCHMITZ (H.). — Ueber Wuchsstoff und Geotropismus bei Gräsern. *Planta*, t. XIX, pp. 614-635.
- 1934 a. — SCHOPFER (W. H.). — Sur l'action des facteurs de croissance contenus dans l'urine. Action sur un microorganisme. *C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève*, t. LI, pp. 200-203.
- 1934 b. — SCHOPFER (W. H.). — Sur l'existence dans les pollinies d'orchidées d'un facteur de croissance de microorganismes. *Ibid.*, t. LI, pp. 29-30.

1936. — SCHOPFER (W. H.). — Etude de l'action auxogène des extraits de tissus animaux normaux et pathologiques sur le développement de Phycomyces. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCII, p. 236.
1937. — SCHOPFER (W. H.). — Recherches sur l'action des produits animaux sur le développement d'un microorganisme (Phycomyces). L'action du lait. *Arch. f. Mikrobiol.*, t. VIII, pp. 231-243.
1937. — SCHOPFER (W. H.) et JUNG (A.). — L'action des produits de désintégration de l'aneurine sur Phycomyces. Le second facteur de croissance des Mucorinées. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCIV, p. 1500.
1924. — SEUBERT (E.). — Ueber Chemotropismus bei Avena. *Biochem. Zeitschr.*, t. CL, pp. 93-100.
1925. — SEUBERT (E.). — Ueber Wachstumsregulatoren in der Koleoptile von Avena. *Zeitschr. f. Bot.*, t. XVII, pp. 49-88.
1926. — SIERP (H.) und SEYBOLD (A.). — Untersuchungen über die Lichtempfindlichkeit der Spitze und des Stumpfes in der Koleoptile von Avena sativa. *Bot.*, t. LXV, pp. 592-610.
1938. — SIVADJIAN (M. J.). — La chimie des vitamines et des hormones. *Gauthiers-Villars*, Paris.
1934. — SKOOG (F.). — The effect of X-rays on growth substance and plant growth. *Science*, t. LXXIX, p. 256.
1935. — SKOOG (F.). — The effect of X-irradiation on auxin and plant growth. *Journ. Cell. Comp. Physiol.*, t. VII, pp. 227-270.
1937. — SKOOG (F.). — A deseeded Avena test method for small amounts of auxin and auxin precursors. *Journ. gen. Physiol.*, t. XX, pp. 311-334.
1934. — SKOOG (F.) and THIMANN (K. V.). — Further experiments on the inhibition of the development of lateral buds by growth hormone. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, t. XX, pp. 480-485.
1930. — SLIFER (E.). — Insect development. I. Fatty acids in the Grasshopper egg. *Physiol. Zool.*, t. III, pp. 503-518.
1937. — SNOW (M.) and SNOW (R.). — Auxin and leaf formation. *New. Phytolog.*, t. XXXVI, pp. 1-18.
- 1932 a. — SNOW (R.). — Growth-regulators in plants. *New. Phytol.*, t. XXXI, pp. 336-354.
- 1932 b. — SNOW (R.). — Experiments on growth and inhibition. III. Inhibition and growth-promotion. *Proc. Roy. Soc. London*, sér. B., t. CXI, pp. 86-105.
1933. — SNOW (R.). — The nature of cambial stimulus. *New. Phytolog.*, t. XXXII, pp. 288-296.
- 1935 a. — SNOW (R.). — Activation of cambial growth by pure hormones. *Nature*, t. CXXXV, p. 876.
- 1935 b. — SNOW (R.). — Activation of cambial growth by pure hormones. *New. Phytolog.*, t. XXXIV, pp. 347-361.
1936. — SNOW (R.). — Upward effects of auxin in coleoptiles and stems. *Ibid.*, t. XXXV, pp. 292-304.
1937. — SNOW (R.). — Two new chemical plant growth substance. *Nature*, t. CXXXIX, p. 27.
1935. — SNOW (R.) and LE FANU (B.). — Activation of cambial growth. *Nature*, t. CXXXV, p. 149.
1923. — SÖDING (H.). — Werden von der Spitze der Haferkoleoptile Wuchshormone gebildet? *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XLI, pp. 396-400.
1925. — SÖDING (H.). — Zur Kenntnis der Wuchshormone in der Haferkoleoptile. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXIV, pp. 587-603.

1929. — SÖDING (H.). — Weitere Untersuchungen über die Wuchshormone der Haferkoleoptile. *Ibid.*, t. LXXI, pp. 184-213.
1931. — SÖDING (H.). — Wachstum und Wanddehnbarkeit bei der Haferkoleoptile. *Ibid.*, t. LXXIV, pp. 127-151.
1934. — SÖDING (H.). — Ueber die Wachstumsmechanik der Haferkoleoptile. *Ibid.*, t. LXXIX, pp. 231-255.
- 1935 a. — SÖDING (H.). — Die Ausführung des Wentischen Auxintestes am Tageslicht. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. LIII, pp. 331-334.
- 1935 b. — SÖDING (H.). — Ueber den Wuchsstoff in der Basis der Haferkoleoptile. *Ibid.*, t. LIII, pp. 843-846.
1936. — SÖDING (H.). — Wirkt der Wuchsstoff artspezifisch? *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LX, LXXXII, pp. 534-554.
- 1937 a. — SÖDING (H.). — Wuchsstoff und Kambiumtätigkeit der Bäume. *Ibid.*, t. LXXXIV, pp. 639-670.
- 1937 b. — SÖDING (H.). — Ueber Wuchsstoffteste. *Ibid.*, t. LXXXV, pp. 770-787.
1936. — SOLACOLU (Th.) et CONSTANTINESCO (D. Gr.). — Reconstitution des racines par les axes hypocotylés de *Phaseolus vulgaris* L. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIII, p. 46.
1936. — SOLACOLU (Th.) et CONSTANTINESCO (D. Gr.). — L'influence du glucose sur la production des racines par les fragments de plantule isolés des semences non germées de *Phaseolus vulgaris* L. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXI, p. 1212.
- 1938 a. — SOLACOLU (Th.), CONSTANTINESCO (D. Gr.) et CONSTANTINESCO (M.). — Etude anatomique et cytologique des modifications provoquées par les substances organo-formatives sur les tiges décapitées de *Vicia faba* L. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVI, p. 1985.
- 1938 b. — SOLACOLU (Th.), CONSTANTINESCO (D. Gr.) et CONSTANTINESCO (M.). — Etude anatomique et cytologique des modifications provoquées par le mélange obtenu d'une substance organo-formative et de la colchicine. *Ibid.*, t. CCVII, p. 246.
1938. — SOLACOLU (Th.) et CONSTANTINESCO (M. et D.). — L'influence de solutions stérilisées de tryptophane sur les plantules isolées de graines mûres et non germées. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIX, p. 403.
1919. — STARK (P.). — Ueber traumatotropische und haptotropische Reizleitungsvorgänge bei Gramineenkeimlingen. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. XXXVII, pp. 358-363.
1921. — STARK (P.). — Studien über traumatotrope und haptotrope Reizleitungsvorgänge mit besonderer Berücksichtigung der Reizübertragung auf fremde Arten und Gattungen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LX, pp. 67-134.
1927. — STARK (P.). — Das Reizleitungsproblem bei den Pflanzen im Lichte neuerer Erfahrungen. *Ergebnisse der Biologie*, t. II, pp. 1-94.
1922. — STARK (P.) und DRECHSEL (O.). — Phototropische Reizleitungsvorgänge bei Unterbrechung des organischen Zusammenhangs. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXI, pp. 339-371.
1932. — STRUGGER (S.). — Die Beeinflussung des Wachstums und des Geotropismus durch die Wasserstoffionen. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, t. L, pp. 77-92.
1933. — STRUGGER (S.). — Ueber das Wachstum dekapitierter Keimpflanzen. *Ibid.*, t. LI, pp. 193-209.
1934. — STRUGGER (S.). — Beiträge zur Physiologie des Wachstums. I. Zur

- protoplasma-physiologischen Kausanalyse des Streckungswachstums. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXIX, pp. 406-471.
1938. — SWEENEY (B. M.) and THIMANN (K. V.). — The effect of auxins on protoplasmic streaming. II. *Journ. of gener. Physiol.*, t. XXI, n° 4, pp. 439-461.
1927. — TETLEY (U.) and PRIESTLEY (J. H.). — The histology of the coleoptile in relation to its phototropic response. *New. Phytol.*, t. XXVI, pp. 171-186.
1934. — THIMANN (K. V.). — Studies on the growth hormone of plants. VI. The distribution of the growth substance in plant tissues. *Journ. gen. Physiol.*, t. XVIII, pp. 23-34.
1935. — THIMANN (K. V.). — On the plant growth hormone produced by *Rhizopus suinus*. *Journ. of biol. Chem.*, t. CLIX, pp. 279-291.
- 1936 a. — THIMANN (K. V.). — On the physiology of the formation of nodules on legume roots. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, t. XXII, pp. 511-514.
- 1936 b. — THIMANN (K. V.). — Auxins and the growth of roots. *Amer. Journ. Bot.*, t. XXIII, pp. 561-569.
1937. — THIMANN (K. V.). — On the nature of inhibitions caused by auxin. *Ibid.*, t. XXIV, n° 7, pp. 407-412.
1938. — THIMANN (K. V.). — Hormones and the analysis of growth. *Plant. Physiol.*, t. III, pp. 437-449.
1932. — THIMANN (K. V.) and BONNER (J.). — Studies on the growth hormone of plants. II. The entry of growth substance into the plant. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington.*, t. XVIII, pp. 692-701.
1933. — THIMANN (K. V.) and BONNER (J.). — The mechanism of the action of the growth substance of plants. *Proc. Roy. Soc.*, t. CXIII, pp. 126-149.
1933. — THIMANN (K. V.) and DOLK (H. E.). — Conditions governing the production of the plant growth hormone by *Rhizopus* cultures. *Biol. Zentralbl.*, t. LIII, pp. 49-66.
1935. — THIMANN (K. V.) and KOEPLI (J. B.). — Identity of the growth-promoting and root-forming substances of plants. *Nature*, t. CXXXV, p. 101.
1938. — THIMANN (K. V.) and LANE (R.). — After-effects of the treatment of seed with auxin. *Amer. Journ. of Botany*, t. XXV, n° 7, pp. 535-543.
1938. — THIMANN (K. V.) and SCHNEIDER (C. L.). — Differential growth in plant tissues. *Ibid.*, t. XXV, n° 8, pp. 627-641.
1933. — THIMANN (K. V.) and SKOOG (F.). — Studies on the growth hormone of plants. III. The inhibiting action of the growth substance on bud development. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, t. XIX, pp. 714-716.
1934. — THIMANN (K. V.) and SKOOG (F.). — On the inhibition of bud development and other functions of growth substance in *Vicia faba*. *Proc. Roy. Soc. Londres*, sér. B., t. CXIV, pp. 317-339.
- 1937 a. — THIMANN (K. V.) and SWEENEY (B. M.). — The effect of auxins upon protoplasmic streaming. *Journ. of Gener. Physiol.*, t. XXI, n° 2, pp. 123-135.
- 1937 b. — THIMANN (K. V.) and SWEENEY (B. M.). — Action of auxin on protoplasmic streaming. *Nature*, t. CXL, p. 807.
1937. — TINCKER (M. A. H.). — Growth substances, root production and cambial activity in woody cuttings. *Ibid.*, t. CXXXIX, p. 1104.
1934. — UHROVÁ (A.). — Ueber die hormonale Natur der Hemmungswirkung der Blätter bei *Bryophyllum crenatum*. *Planta*, t. XXII, pp. 411-427.

1927. — UYLDERT (I. E.). — The influence of the growth-promoting substances on decapitated flower-stalks of *Bellis perennis*. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXI, pp. 59-61.
1931. — UYLDERT (I. E.). — De invloed van groeistof op planten met intercalaire groei. *Dissert. Utrecht*.
1937. — VEH (R.) und SÖDING (H.). — Wuchsstoff und Keimung der Obstbaumkerne. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, t. LV, pp. 270-278.
1905. — WIEL (P.). — Sériciculture. *Baillière, éd., Paris*.
1934. — VIRTANEN (A. I.) and HAUSEN (S. von). — Effect of yeast extract on the growth of plants. *Nature*, t. CXXXIII, p. 383.
1936. — VIRTANEN (A. I.) and LAINE (T.). — Amino-acid content of plants at different stages of growth. *Ibid.*, t. CXXXVII, p. 237.
1936. — WADDINGTON (C. H.), NEEDHAM (J.) and BRACHET (J.). — Studies on the nature of the amphibian organization centre. III. The activation of the evocator. *Proc. Roy. Soc. London, B*, t. CXX, pp. 173-198.
1936. — WADDINGTON (C. H.), NEEDHAM (J.), NOWINSKI (W. W.), LEMBERG (R.) and COHEN (A.). — Studies on the nature of the amphibian organization centre. IV. Further experiments on the chemistry of the evocator. *Proc. Roy. Soc.*, B, t. CXX, pp. 198-207.
1937. — WARNE (L. G. G.). — Effect of spraying solutions of growth substances on the inflorescences of the florist's chrysanthemum. *Nature*, t. CXL, p. 1065.
1937. — WARNE (L. G. G.) and JACKSON (A. A.). — Skatole as a root forming substance. *Ibid.*, t. CXL, p. 26.
1937. — WEBSTER (M. E.) and ROBERTSON (J. M.). — Permanganates and plant growth. *Ibid.*, t. CXXXIX, p. 71.
1931. — WEIJ (H. G. VAN DER). — Die quantitative Arbeitsmethode mit Wuchsstoff. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, XXXIV, pp. 875-892.
1932. — WEIJ (H. G. VAN DER). — Der Mechanismus des Wuchsstofftransportes. *Rec. trav. bot. néerl.*, t. XXIX, pp. 379-496.
1933. — WEIJ (H. G. VAN DER). — On the occurrence of growth substance in marine algæ. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXVI, pp. 759-760.
1938. — WEINTRAUB (Robert L.). — An assay method for growth-promoting substances utilizing straight growth of the avena coleoptile. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, Vol. XCVII, n° 11, pp. 1-10.
1930. — WENT (F. A. F. C.). — Les conceptions nouvelles sur les tropismes des plantes. *Rev. génér. des Sc.*, t. XLI, n° 22, p. 631.
- 1933 a. — WENT (F. A. F. C.). — Die Bedeutung des Wuchsstoffes (Auxin) für Wachstum, photo- und geotropische Krümmungen. *Naturwiss.*, H, t. XXI, pp. 1-7.
- 1933 b. — WENT (F. A. F. C.). — Growth substance (Auxin) in plants. *Nature*, t. CXXXIII, pp. 452-453.
1934. — WENT (F. A. F. C.). — Hormone bei Pflanzen. *Actes Soc. helv. Sc. nat.*, pp. 220-240.
1935. — WENT (F. A. F. C.). — The investigations on growth and tropisms carried on in the Botanical Laboratory of the University of Utrecht during the last decade. *Biolog. Rev.*, vol. X, pp. 187-207.

1928. — WENT (F. W.). — Wuchsstoff und Wachstum. *Rec. trav. bot. néerl.*, t. XXV, pp. 1-116.
1929. — WENT (F. W.). — On a substance causing root formation. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXII, pp. 35-39.
1932. — WENT (F. W.). — Eine botanische Polaritätstheorie. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, t. LXXVI, pp. 528-557.
- 1934 a. — WENT (F. W.). — A test method for rhizocaline, the root-forming substance. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, t. XXXVII, pp. 445-455.
- 1934 b. — WENT (F. W.). — On the pea method for auxin, the plant growth hormone. *Ibid.*, t. XXXVII, pp. 547-555.
- 1935 a. — WENT (F. W.). — Coleoptile growth as affected by auxin, aging and food. *Ibid.*, t. XXXVIII, pp. 752-767.
- 1935 b. — WENT (F. W.). — Auxin, the plant growth hormone. *Bot. Rev.*, t. I, pp. 162-182.
1936. — WENT (F. W.). — Allgemeine Betrachtungen über das Auxin-Problem. *Biol. Zentralbl.*, t. LVI, pp. 449-462.
1937. — WENT (F. W.). — Salt accumulation and polar transport of plant hormones. *Science*, t. LXXXVI, p. 127.
1937. — WENT (F. W.) and THIMANN (K. V.). — Phytohormones. *Exp. biolog. monogr. The Macmillan, New-York*.
1933. — WHITE (P. R.). — The SH radical and some other sources of sulfur as affecting growth of isolated root tips of wheat seedlings. *Protoplasma*, t. XIX, pp. 132-135.
1937. — WILLIAMS (S.). — Correlation phenomena and hormones in selaginella. *Nature*, t. CXXXIX, p. 966.
1935. — WINKLER (S.) und PETERSEN (S.). — Tryptophanreaktion und nachweis des heteroauxins. *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, t. CCXXXI, p. 210.
1937. — WUHRMANN (K.). — Der Einfluss von Salzen auf die Wuchsstoffwirkung. *Act. Soc. helv. Sc. nat.*, t. CXVIII, sess. Genève, pp. 147-148.
1937. — YIN (H. C.). — Effect of auxin on *Chlorella vulgaris*. *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, t. XXIII, pp. 174-176.
1933. — ZIMMERMAN (P. W.), CROCKER (W.) and HITCHCOCK (A. E.). — Initiation and stimulation of roots from exposure of plants to carbon monoxide gas. *Contrib. from. Boyce Thompson, Inst.*, t. V, pp. 195-211.
1936. — ZIMMERMAN (P. W.), HITCHCOCK (A. E.), and WILCOXON (F.). — Several esters as plant hormones. *Contrib. from. Boyce Thompson, Inst.*, t. VIII, pp. 105-112.
1935. — ZIMMERMAN (P. W.) and WILCOXON (F.). — Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants. *Ibid.*, pp. 209-229.
1936. — ZIMMERMANN (W. A.). — Untersuchungen über die räumliche und zeitliche Verteilung des Wuchsstoffes bei Bäumen. *Z. f. Bot.*, t. XXX, pp. 209-252.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.	3
PREMIÈRE PARTIE	
LES AUXINES DANS LE RÈGNE VÉGÉTAL	
CHAPITRE PREMIER. — Les substances de croissance	7
a) <i>La notion de substance de croissance</i>	7
b) <i>Son extraction dans une gelée d'agar.</i>	10
c) <i>Les données quantitatives</i>	11
d) <i>La non-spécificité des substances de croissance répandues dans le règne végétal</i>	12
e) <i>Hormone de croissance des racines</i>	13
CHAPITRE II. — Les techniques employées dans la recherche des auxines	15
A. — Les méthodes d'extraction	15
a) <i>Extraction par diffusion dans l'agar</i>	15
b) <i>Extraction aqueuse</i>	16
c) <i>Extraction par divers solvants</i>	16
d) <i>Méthode électrique de Pohl</i>	17
B. — Les tests de réaction	18
I. — La substance de croissance pénètre dans la plante par une incision faite dans les tissus	18
a) <i>Le test du coléoptile d'avoine de F. W. Went.</i>	18
b) <i>Le test auxinique de F. W. Went exécuté à la lumière du jour</i>	20
c) <i>Le test Cephalaria.</i>	20
d) <i>Le test Pisum</i>	21
e) <i>Le test Pissenlit</i>	23
f) <i>Mesure de l'accroissement en longueur d'un coléoptile d'avoine</i>	23
g) <i>Mesure de l'accroissement d'un petit cylindre prélevé dans un coléoptile d'avoine</i>	24

	Pages
II. — La pénétration des substances de croissance s'effectue à travers l'épiderme dans des plantes de réaction qui n'ont subi aucun traumatisme	24
a) <i>Par apposition de plaquettes d'agar contenant l'auxine sur une face du coléoptile</i>	24
b) <i>Par application d'une pâte de substance à base de lanoline</i>	25
c) <i>Par badigeonnage au pinceau</i>	25
III. — Autres méthodes	26
a) <i>Les réponses épinastriques des tiges sous l'action des substances de croissance</i>	26
b) <i>L'effet inhibitif de l'auxine sur la croissance des racines</i>	27
c) <i>L'action activatrice de l'auxine sur la formation de racines chez les boutures</i>	27
C. — La valeur de ces différents tests au point de vue expérimental	28
CHAPITRE III. — La chimie des auxines	31
I. — Auxines <i>a</i> et <i>b</i>	31
A. — Extraction chimique de l'hormone de croissance	31
a) <i>Etat naturel et distribution</i>	32
b) <i>Isolement de l'auxine a et de sa lactone à partir de l'urine humaine</i>	33
1. — A partir de l'urine de femme enceinte	34
2. — A partir de l'urine mélangée	34
3. — Technique d'isolement	35
c) <i>Isolement des auxines a et b à partir de sources végétales</i>	36
B. — Formules de constitution des auxines <i>a</i> et <i>b</i>	38
C. — Propriétés physiques de l'auxine <i>a</i> et de sa lactone	39
D. — Identification des auxines <i>a</i> et <i>b</i>	40
E. — Rapports entre l'activité physiologique et la structure moléculaire	40
II. — Hétéroauxine	43
a) <i>Obtention de l'hétéroauxine urinaire; son identification à l'acide indol-3-acétique</i>	44
b) <i>Extraction de l'hétéroauxine à partir des sources végétales</i>	45
c) <i>Propriétés physiques</i>	46
d) <i>Propriétés chimiques</i>	46
e) <i>Relations entre l'activité physiologique et la constitution moléculaire</i>	47
1. — Signification du groupe carboxyle	47
2. — Influence de la double liaison	48
3. — Activité des homologues nucléaires	49
4. — Importance de la chaîne latérale	51

	Pages
f) <i>Activité physiologique des produits de dégradation du tryptophane.</i>	51
RÉSUMÉ	52
III. — Autres substances chimiques efficaces	54
CHAPITRE IV. — Les recherches physiologiques sur les auxines chez les végétaux	56
I. — L'hormone de croissance des plantes supérieures	56
a) <i>Sa présence générale</i>	56
b) <i>Son identification avec l'auxine</i> a	58
c) <i>Formation de l'auxine dans les plantes vertes</i>	61
1. — Influence des facteurs externes	62
α. — Température	62
β. — Gravité	62
γ. — Age	62
δ. — Lumière.	62
2. — Les « précurseurs » de l'auxine	63
d) <i>La répartition de l'hormone de croissance dans la plante</i>	65
e) <i>Transport de l'auxine dans la plante</i>	66
1. — Voies de transport	66
2. — Polarité du transport	68
3. — Vitesse du déplacement	70
4. — Action des agents externes sur la migration de l'auxine	70
5. — Transport acropète et latéral.	71
6. — Le mécanisme du transport axial de l'auxine.	72
α. — Courants protoplasmiques	72
β. — Différences de potentiel	73
II. — L'auxine produite par les microorganismes.	75
RÉSUMÉ DU CHAPITRE IV	77
CHAPITRE V. — Le rôle de l'auxine dans la physiologie de la plante	78
I. — L'auxine comme régulateur de croissance	78
a) <i>L'effet de l'auxine sur la croissance.</i>	78
b) <i>Influence des facteurs internes sur l'effet de l'auxine.</i>	79
c) <i>Relations entre la taille de la plante et la quantité d'auxine.</i>	80
d) <i>Auxines et potentiel d'oxydo-réduction</i>	80
e) <i>Effet des rayons X sur l'hormone de croissance</i>	81
II. — Les auxines, facteurs d'élongation cellulaire	82
a) <i>Effet de l'auxine sur la paroi de la cellule.</i>	83
b) <i>Mécanisme de l'action de l'hormone de croissance.</i>	84
c) <i>Répartition asymétrique de la substance de croissance : tropismes et nasties</i>	87
1. — Phototropisme	87
2. — Géotropisme	88
3. — Nasties	89

	Pages
III. — Les auxines « facteurs retardateurs ou inhibiteurs de croissance »	89
IV. — Les auxines « facteurs de multiplication cellulaire »	91
RÉSUMÉ DU CHAPITRE V	95

DEUXIÈME PARTIE

LES AUXINES DANS LE RÈGNE ANIMAL

A. — Historique	97
a) <i>Leur présence dans les tissus et les sécrétions</i>	97
b) <i>Leur origine</i>	99
c) <i>Rôle de l'auxine dans la croissance de l'organisme animal et de sa cellule</i>	101
B. — Recherches personnelles	105
CHAPITRE PREMIER. — Technique et conditions générales de travail	105
I. — Matériel	106
a) <i>Le cabinet noir</i>	106
b) <i>Eclairage</i>	107
c) <i>Chambres humides</i>	108
d) <i>Préparation des lamelles d'agar</i>	108
2. — Culture des plantes de test	109
a) <i>Germination des graines</i>	109
b) <i>Croissance des plantes de réaction dans les tubes de culture</i>	110
3. — Extraction des produits actifs de l'organisme animal	112
4. — La conduite d'un essai	114
CHAPITRE II. — La mise en évidence de substances fonctionnant comme les auxines végétales au cours du développement des Vertébrés	116
A. — Chez <i>Discoglossus pictus</i> Otth	116
a) <i>Place dans la systématique et cycle biologique</i>	116
b) <i>Recherches de substances actives dans les éléments sexuels : sperme et ovules</i>	116
c) <i>Leur apparition au cours de l'ontogénèse</i>	117
d) <i>La répartition topographique des substances actives contenues avant et après l'éclosion, et dans la larve âgée de quelques jours</i>	119
α. — <i>L'embryon à un stade qui précède de peu l'éclosion</i>	120
β. — <i>Le têtard venant de naître</i>	120
γ. — <i>La jeune larve âgée de 8 à 10 jours</i>	121
e) <i>Influence du jeûne, chez le têtard de <i>Discoglossus pictus</i> Otth, sur la teneur en substances fonctionnant comme les auxines végétales</i>	122

	Pages
f) <i>La recherche de ces substances chez le Discoglosse adulte.</i> <i>Leur répartition topographique</i>	125
B. — Chez le Poulet	129
a) <i>Incubation des œufs.</i>	129
b) <i>Recherches des substances actives dans l'œuf fécondé non soumis à l'incubation.</i>	129
c) <i>Leur apparition tardive et à dose minime dans l'œuf fécondé.</i>	130
d) <i>Chez l'adulte.</i>	132
C. — Présence et répartition de ces substances dans l'organisme du Cobaye. Leur recherche dans l'hypophyse de bovin et dans différentes préparations hormonales du commerce.	133
D. — Extraction acide de l'hormone de croissance	136
a) <i>Discoglosse</i>	137
b) <i>Poulet.</i>	138
E. — Apparition de ces substances au cours de l'autolyse de quelques organes du Discoglosse et du Cobaye	139
a) <i>Discoglosse</i>	140
1. — <i>Prélèvement des organes et technique.</i>	140
2. — <i>Introduction de l'agar dans les produits soumis à l'autodigestion</i>	141
3. — <i>Activité du foie et du sang autolysés.</i>	142
b) <i>Cobaye.</i>	143
CHAPITRE III. — La recherche de substances comparables aux auxines végétales pendant l'ontogénèse des Invertébrés	145
A. — Chez <i>Bombyx mori</i> L.	145
a) <i>Place dans la systématique et cycle biologique</i>	145
b) <i>Matériel et conditions d'élevage</i>	147
c) <i>Recherches des substances actives dans l'œuf fécondé jusqu'à un stade qui précède de peu l'éclosion</i>	148
d) <i>Leur présence dans la larve à ses différents âges</i>	149
B. — Chez <i>Lucilia sericata</i> Meig.	151
a) <i>Diagnose, mœurs et cycle biologique.</i>	152
b) <i>Technique d'élevage de <i>Lucilia sericata</i>.</i>	153
c) <i>Recherches de matières actives au cours des différents stades du cycle évolutif de <i>Lucilia sericata</i>.</i>	155
RÉSUMÉ DES CHAPITRES II ET III	157

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION DES RÉSULTATS

I. — Examen critique de la méthode employée	160
a) <i>Sensibilité absolue et relative du test ; sa valeur par rapport aux tests coléoptiles d'avoine plus récents</i>	160

	Pages
b) <i>Etude comparée des techniques utilisées pour l'extraction des substances auxiniques contenues dans les tissus animaux. Auxines libres et auxines combinées</i>	162
c) <i>Nature des renseignements chimiques fournis; les substances connues de fonction auxinique</i>	167
d) <i>Signification générale des résultats qu'elle nous a fournis</i>	169
CONCLUSION	172
II. — Les substances de croissance dans le règne animal	172
A. — Chez les formes embryonnaires	172
a) <i>Gamètes et œuf fécondé</i>	172
b) <i>Au cours du développement, sans nutrition externe</i>	174
c) <i>Au cours du développement, après éclosion</i>	179
B. — Chez les adultes	183
<i>Comparaison avec l'œuf et l'embryon</i>	189
D. — Rôle physiologique des auxines	191
RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS	198
BIBLIOGRAPHIE	201

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Les hormones sexuelles.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 24 Juillet 1939.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

